12 月 December
2019，62(12)：1448 – 1468

昆 虫 学 报
ACTA ENTOMOLOGICA SINICA

http：//www. insect. org. cn
doi：10.16380/j. kcxb. 2019.12.011

植物介导的害虫 RNA 干扰

傅 淑[1,2,3,4]，刘昭霞[1,2,3,4]，陈金芝[1,2,3,4]，孙庚晓[1,2,3,4]，
孙翠英[1,2,3,4]，杨 广[1,2,3,4,*]

（1. 福建农林大学应用生态研究所，闽台作物有害生物生态防控国家重点实验室，福州 350002；
2. 福建农林大学，农业部闽台作物有害生物综合治理重点实验室，福州 350002；
3. 福建农林大学，害虫绿色防控福建省高等学校重点实验室，福州 350002；
4. 福建农林大学，教育部害虫生态防控国际合作联合实验室，福州 350002）

摘要：应用植物介导的昆虫 RNAi 进行害虫防治近 10 年来受到了广泛的关注，其作用机理包括两个阶段，首先是害虫靶标基因 dsRNA 在植物体内的表达、运输和贮存，然后是害虫取食该植物后，dsRNA 特异性抑制害虫体内靶标基因的表达。目前，植物介导的昆虫 RNAi 主要针对鳞翅目、鞘翅目和同翅目害虫，可以引起害虫生长发育的异常，导致死亡/繁殖力下降，甚至影响到其子代的生长。影响植物介导昆虫 RNAi 效率的因素主要包括害虫靶标基因的选择、dsRNA 靶定位点及长度、植物表达 dsRNA 载体的结构和转基因植物的遗传转化方式等。植物介导昆虫 RNAi 防治害虫的策略也面临着潜在的安全性问题，如转基因植物安全性和 RNAi 潜在脱靶性等。随着植物介导昆虫 RNAi 技术的成熟，该方法有望成为害虫防治的新策略。

关键词：转基因植物；害虫防治；靶标基因；RNAi；脱靶效应
中图分类号：S433.1　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**0454-6296(2019)12-1448-21

Plant-mediated RNA interference in insect pests

FU Shu[1,2,3,4], LIU Zhao-Xia[1,2,3,4], CHEN Jin-Zhi[1,2,3,4], SUN Geng-Xiao[1,2,3,4], SUN Cui-Ying[1,2,3,4], YANG Guang[1,2,3,4,*] (1. State Key Laboratory of Ecological Pest Control for Fujian and Taiwan Crops, Institute of Applied Ecology, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 2. Key Laboratory of Integrated Pest Management for Fujian-Taiwan Crops, Ministry of Agriculture, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 3. Key Laboratory of Green Pest Control, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 4. Joint International Research Laboratory of Ecological Pest Control, Ministry of Education, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: Insect pest control by plant-mediated RNAi has received extensive attention in the recent decade. The process involves two steps: the first is the expression, transport and storage of the dsRNAs of target genes in a plant, and the second is that the expression of target gene in the pest is specifically inhibited after the pest feeds on this plant. So far, plant-mediated RNAi has been focused on Coleoptera, Lepidoptera and Homoptera pests, causing the abnormal growth and development, reduced fecundity, and mortality of insect pests, and even the abnormal growth and development of their offspring. There are many factors affecting the efficacy of plant-mediated RNAi for pest control, including the selection of target gene/locus, the length of dsRNA, dsRNA expression vector and the transformation method of

---

基金项目：福建省科技重大专项(2018NZ0002)
作者简介：傅淑，男，1988 年 12 月生，江西新余人，博士研究生，研究方向为植物介导 RNAi 防治小菜蛾的研究，E-mail：fushu881219@163.com
* 通讯作者 Corresponding author, E-mail：yxg@fafu.edu.cn
收稿日期 Received：2019-08-06；接受日期 Accepted：2019-10-28

plant. Plant-mediated RNAi for pest control is still facing some challenges, such as the ecological safety of transgenic plant and the potential off-target effect of RNAi. With the development of this technology, it could become a new strategy for pest control.

Key words: Transgenic plant; insect pest control; target gene; RNAi; off-target effect

通过转基因技术培育抗虫作物相比于传统的抗虫作物育种方式,不仅具有操作简便和周期短等优势,而且可以极大地节省人力和时间成本(高马也等, 2017)。最成功的转基因抗虫作物即为表达苏云金芽孢杆菌 *Bacillus thuringiensis* (Bt)毒蛋白的转基因作物,于 1996 年进行商业化应用于鳞翅目和鞘翅目害虫的防治,有效减少了化学农药的使用量和保护了作物(Gatehouse *et al*., 2011)。但是表达 Bt 蛋白的转基因植物对同翅目等刺吸式取食的害虫没有防治效果(Bonning and Chougule, 2014),且许多害虫已经对表达 Bt 蛋白的转基因植物产生了抗性(Janmaat and Myers, 2003; Wan *et al*., 2012; Furlong *et al*., 2013; Tabashnik and Carrière, 2017)。因此,寻找新的转基因作物来替代或补充现有的传统转基因作物来进行害虫防治已是迫在眉睫。

RNA 干扰(RNA interference, RNAi)指在生物体内,外源或内源的双链 RNA (double-stranded RNA, dsRNA)与其互补的信使 RNA (mRNA)结合,引起 mRNA 的裂解或通过影响翻译抑制其靶标基因的表达,从而产生基因沉默的现象。最早 1990 年,在矮牵牛 *Petunia hybrida* 花瓣色彩的研究中,发现了基因沉默现象(Napoli *et al*., 1990);之后该现象也在粗糙脉孢菌 *Neurospora crassa* 中被报道(Romano and Macino, 1992)。直到 1998 年,Fire 等在对秀丽隐杆线虫 *Caenorhabditis elegans* 的研究中,发现并定义了 RNAi 的作用内涵(Fire *et al*., 1998),其作者 Fire 和 Mello 也因此获得了 2006 年的诺贝尔生理学或医学奖。RNAi 现象广泛存在于动物、植物以及微生物中,该技术作为一种基因表达抑制的有效手段,目前已被广泛地应用于昆虫功能基因组学和害虫防治等的研究(Meister and Tuschl, 2004; Carthew and Sontheimer, 2009; Tsai *et al*., 2015; Zotti and Smagghe, 2015; 沈修婧和杨广, 2016; Zotti *et al*., 2018; 胡少茹等, 2019)。2007 年,最早出现了利用转基因植物表达害虫靶标基因 dsRNA 来防治害虫的报道(Baum *et al*., 2007; Mao *et al*., 2007)。植物介导的昆虫 RNAi 指利用表达了昆虫特定基因的 dsRNA 的寄主植物喂食该昆虫,可以沉默昆虫特定靶标基因的表达,引起昆虫生长发育的异常,起到害虫防控的作用,且对非靶标生物及环境友好(Bhatia *et al*., 2012; Dubelman *et al*., 2014)。此外,该技术还可以针对害虫的不同靶标基因构建同时表达多种 dsRNA 的作物,以提高作物对害虫的抗性和解决因害虫对单个靶标基因沉默产生抗性的问题(Katoch *et al*., 2013; Tzin *et al*., 2015)。目前,该技术已被用于治理对 Bt 产生抗性的害虫,如用表达 dsRNA 的作物防治已对 Bt 蛋白产生抗性的棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Ni *et al*., 2017)。因此,利用植物介导昆虫 RNAi 防治害虫的手段有望减少化学农药的用量,弥补现有转基因抗虫作物的不足(Kim *et al*., 2015; Yu *et al*., 2016a; Wang *et al*., 2017; Zhang *et al*., 2017; Zotti *et al*., 2018)。

应用植物介导的昆虫 RNAi 来防治害虫在近 10 年来受到了广泛的关注,在“Web of Science”数据库网站(http://apps.webofknowledge.com)搜索时,输入“Plant”,“Insect”和“RNAi”进行查询时,可以得到 2 131 个相关的报道数据结果,发现从 2007 - 2018 年,文献逐年上升,且以年均约 15.0% 的速度增长,说明该领域的研究越来越受到重视。为了对应用植物介导的昆虫 RNAi 来防治害虫进行一个较全面的认识,本文对植物介导昆虫 RNAi 的作用机理、应用进展、影响因素和面临的挑战等进行了综述。

1　植物介导昆虫 RNAi 防治害虫的作用机理

植物介导昆虫 RNAi 防治害虫的作用机理包括以下两个过程,首先是植物体内害虫靶标基因 dsRNA 的表达、运输和贮存,然后是害虫取食该植物后 dsRNA 特异性地抑制害虫体内靶标基因的表达(图 1)。

1.1　植物体内昆虫靶标基因 dsRNA 的表达、运输和贮存

植物介导昆虫 RNAi 防治害虫的第一步即获得表达害虫靶标基因 dsRNA 的转基因植物,植物表达 dsRNA 的形式分为不可遗传的病毒侵染瞬时表达和可遗传的转基因植物表达(Hajeri *et al*., 2014),其中转基因植物表达又可进一步细分为核转化植物

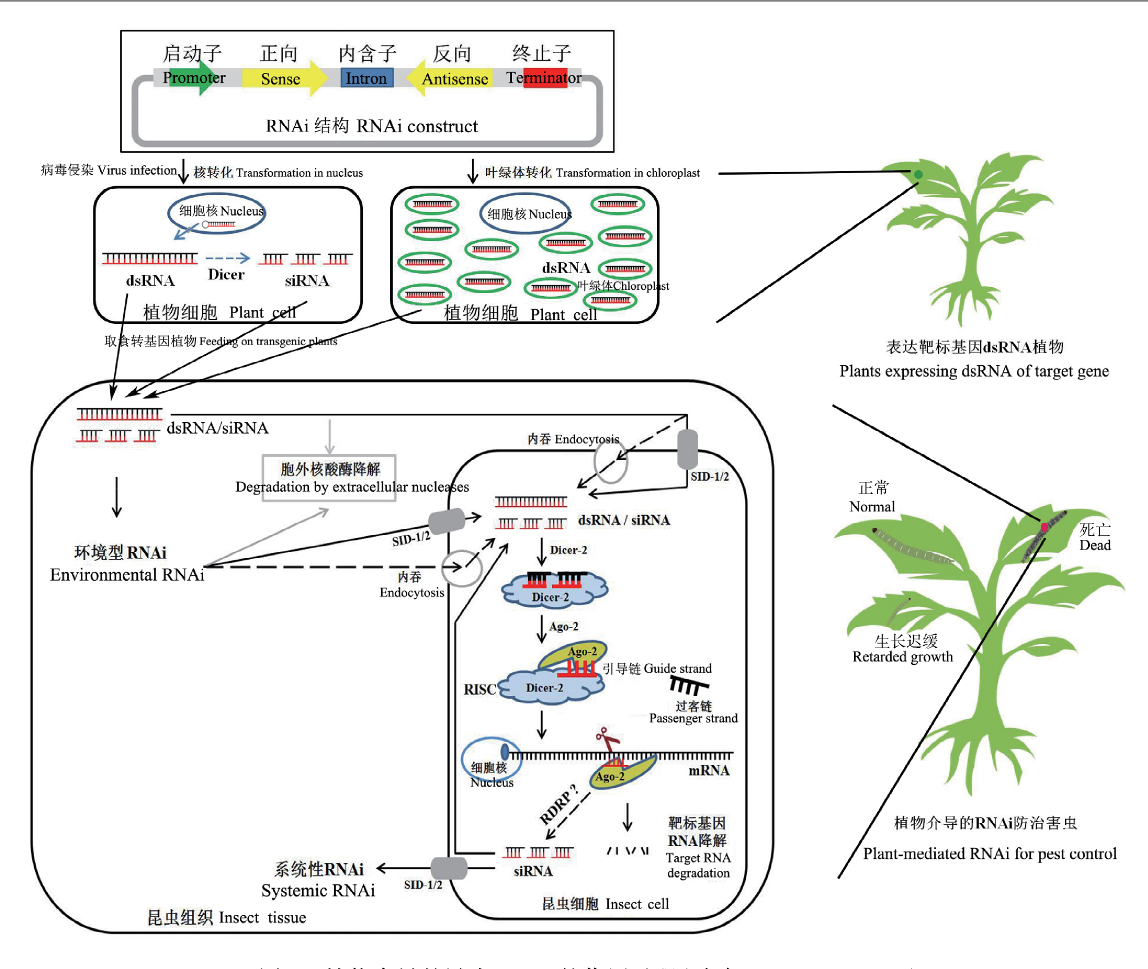


图 1 植物介导的昆虫 RNAi 的作用过程(改自 Yu *et al*., 2016b)

Fig. 1 Functional process of plant-mediated RNAi in insects (adopted from Yu *et al*., 2016b)

表达(将表达 dsRNA 的结构插入到植物细胞核基因组内表达 dsRNA)(Mao *et al*., 2007)和叶绿体转化植物表达(将表达 dsRNA 的结构插入到植物叶绿体基因组内表达 dsRNA)(Jin *et al*., 2015)。核转化植物(Tzfira and Citovsky, 2006)和病毒侵染植物(Nagyová and Subr, 2007; Swevers *et al*., 2013)在细胞核内转录表达 dsRNA 后,形成的 dsRNA 被转运至植物细胞质内,其中部分 dsRNA 会被植物自身的 Dicer 酶切割成小片段的 siRNA,这些 siRNA 可以通过胞间连丝进行短距离运输或通过韧皮部进行长距离转运至整株植物(Jose and Hunter, 2007);而叶绿体转化植物因叶绿体细胞器数量众多,不仅 dsRNA 表达量高,且不会被转运至细胞质,仅储存于叶绿体内,同时叶绿体内无 Dicer 酶,因此叶绿体转化植物表达的 dsRNA 可以大量累积(Brodersen and Voinnet, 2006; Kumar *et al*., 2012; Bally *et al*., 2016; Zhang *et al*., 2017)。

1.2 dsRNA 介导昆虫靶标基因的抑制

当昆虫取食了表达其靶标基因 dsRNA 的植物后,植物细胞在昆虫肠道内裂解并释放其中的 dsRNA/siRNA,部分 dsRNA/siRNA 会在转移过程中被昆虫胞外核酸酶降解(Huvenne and Smagghe, 2010; Yu *et al*., 2016b)。存在于昆虫肠道内的 dsRNA/siRNA 进入昆虫体内细胞,沉默细胞内靶标基因的表达,从而形成环境型 RNAi (environmental RNAi, 指部分细胞从环境中吸收 dsRNA 后,仅在这部分细胞内引起 RNAi 效果)(Winston *et al*., 2007; Huvenne and Smagghe, 2010)。环境型 RNAi 包括以下过程:首先,dsRNA/siRNA 通过内吞作用的方式进入昆虫体内细胞,后被昆虫细胞内的 Dicer-2 酶(RNase Ⅲ 内切酶)结合并切割成 20 ~ 25 bp 长度的 siRNA (Elbashir *et al*., 2001; Saleh *et al*., 2006; McEwan *et al*., 2012)。值得注意的是在线虫体内 dsRNA/siRNA 还可以通过细胞跨膜通道蛋白介导的方式进入体内细胞,如 Winston 等(2007)报道的秀丽隐杆线虫 dsRNA 可以通过 SID-2 介导进入体内细胞,同时 SID-1 在该过程中也起到了必不可少的作用,这与 Whangbo 和 Hunter (2008)报道的线虫

SID-1 与 SID-2 在环境型 RNAi 中是相互协作关系的结论相一致。之后，siRNA 在解旋酶等作用下解开双链变为单链 RNA，其中的一条单链为引导链 RNA（guide RNA），该链会与 Argonaute 2 蛋白（Ago-2）结合，由 Dicer-2，Ago-2 和引导链 RNA 等组成的复合物称为 RNA 沉默复合物（RNA-induced silencing complex，RISC），RISC 在引导链 RNA 的引导下与其互补的 mRNA 靶标区域进行特异性的切割，使该靶标基因 mRNA 序列裂解，沉默其表达（Meister and Tuschl，2004；Siomi and Siomi，2009）。有报道表明其他一些蛋白也协助参与了 RNAi 过程，如 R2D2，FMRp，QDE-3，CHP1，Hsp70 和 Hsp90 等（Liu *et al.*，2003；Meister and Tuschl，2004；Dowling *et al.*，2016；Tsuboyama *et al.*，2018）。

此外，有报道表明，生物体内的 RNA 依赖性 RNA 聚合酶（RNA-dependent RNA polymerase，RDRP）可以与裂解后的 mRNA 结合，重新合成新的 dsRNA/siRNA 并释放至细胞外或再次参与细胞内的 RNAi 过程，形成系统性 RNAi（system RNAi，指部分细胞内发生基因沉默后，沉默信号可以转移至其他细胞或组织，从而引起基因沉默效果的扩散传播）（Huvenne and Smagghe，2010）。但 RDRP 仅在微生物、真菌、植物、线虫和原始脊椎动物中被发现，在软体动物、其他类的脊椎动物和大部分昆虫中未被发现（Sijen *et al.*，2001；Price and Gatehouse，2008；Malone and Hannon，2009）。Tomoyasu 等（2008）报道了赤拟谷盗 *Tribolium castaneum* 体内具有系统性 RNAi 现象，同时也发现赤拟谷盗中没有参与系统性 RNAi 关键聚合酶 RDRP 的同源性基因，且 3 个 SID-1 同源基因与秀丽隐杆线虫中并不参与系统性 RNAi 途径的基因 *tag*-130 同源；Li 等（2016）也报道了玉米根萤叶甲 *Diabrotica virgifera virgifera* 具有系统性 RNAi 现象，但未发现有聚合酶 RDRP 的同源性基因，且在注射 dsRNA 后，未检测到有新的 siRNA 产生，这些结果说明了昆虫的系统性 RNAi 通路可能与其他具有系统性 RNAi 现象的生物不一致。此外，在美洲沙漠蝗 *Schistocerca americana*（Dong and Friedrich，2005）、东亚飞蝗 *Locusta migratoria*（Luo *et al.*，2012）、非洲甘薯象甲 *Cylas puncticollis*（Prentice *et al.*，2015）、麦长管蚜 *Sitobion avenae*（Wang *et al.*，2015）和蜂巢小甲虫 *Aethina tumida*（Powell *et al.*，2016）等昆虫中也发现了系统性 RNAi 现象，但其作用机理仍有待进一步的研究。

2　植物介导昆虫 RNAi 的控害效应

目前，植物介导的昆虫 RNAi 主要针对鳞翅目、鞘翅目和同翅目的害虫，可以引起害虫生长发育的异常，从而进一步影响其存活率和繁殖力，甚至其子代的生长发育也会受到干扰（表 1）。

2.1　昆虫生长发育的异常

害虫取食了表达其靶标基因 dsRNA 的寄主植物后，其生长发育可受到影响，包括发育时间延长、体重减轻和畸形等（表 1）。如以棉铃虫几丁质酶基因 *chitinase* 为靶标构建表达其 dsRNA 的转基因烟草 *Nicotiana tabacum* 和番茄 *Solanum lycopersicum*，当棉铃虫幼虫取食了这两种转基因植物后，其靶标基因 *chitinase* 的转录水平减少了 5.8～6.2 倍，幼虫期延长了 5～7 d，蛹重下降了 31%～37%，虫体畸形率为 38%～41%，最终导致了 52%～56% 的死亡率（Mamta *et al.*，2016）；以桃蚜 *Myzus persicae* 体内渗透压调节相关基因 *aquaporin*，*sucrase* 和 *gut sugar transporter* 为靶标构建表达其 dsRNA 的转基因本氏烟草 *Nicotiana benthamiana* 和番茄 *Lycopersicon esculentum*，当桃蚜或马铃薯木虱 *Bactericera ckerelli* 取食这两种转基因植物后，蚜虫或木虱体内靶标基因的转录水平下降了 50%，且虫体内的血淋巴渗透压显著地提高，同时出现了成虫体重减轻、繁殖力下降等现象（Tzin *et al.*，2015）。

2.2　昆虫存活率降低

害虫取食了表达其靶标基因 dsRNA 的寄主植物后，其对农药的抗性或植物次生代谢物的解毒能力等降低，最终导致害虫的存活率下降（表 1）。如以麦长管蚜参与对有机磷农药抗性的羧酸酯酶基因 *carboxylesterase* 为靶标构建表达其 dsRNA 的转基因小麦 *Triticum aesticum*，当麦长管蚜取食该小麦后，虫体内 *carboxylesterase* 基因的转录水平下降了 30%～60%，对倍腈松农药的抗性降低，同时死亡率也显著升高（Xu *et al.*，2014）；以烟草天蛾 *Manduca sexta* 细胞色素 P450 单氧化酶家族解毒酶基因 *CYP6B46* 为靶标构建表达其 dsRNA 的转基因野生烟草 *Nicotiana attenuata*，当烟草天蛾取食该烟草叶片后，虫体对尼古丁的解毒代谢能力减弱，其血淋巴中尼古丁的含量减少，导致烟草天蛾通过气门排出的尼古丁数量减少，而天敌狼蛛 *Camptocosa parallela* 会优先取食尼古丁排放量少的烟草天蛾，从而使狼蛛对取食了转基因烟草的烟草天蛾具有优先取食特性，

表 1 表达 dsRNA 的植物对靶标害虫的影响

Table 1 Effects of plants expressing dsRNA on target insect pests

昆虫目 Order	靶标害虫 Target insect pest	靶标基因 Target gene(s)	基因功能 Gene function	dsRNA 长度 Length of dsRNA (bp)	表达 dsRNA 的植物 Plant expressing dsRNA	启动子 Promoter	遗传转化 Genetic transformation	抗性筛选 Resistance screening	对害虫的效果 Effect on insect pest	参考文献 Reference(s)
鳞翅目 Lepidoptera	棉铃虫 *Helicoverpa armigera*	JH 甲基转移酶基因 JH methyltransferase gene (*JHAMT*), JH 蛋白结合酶基因 JH binding protein gene (*JHBP*)	保幼激素 JH 的转运或合成相关酶 Transport or synthesis of JH	408/500	陆地棉 *Gossypium hirsutum*	PRP	核转化 Nuclear transformation	卡那霉素 Kanamycin	死亡，生长迟缓，与 Bt 结合后死亡率更高 Mortality, retarded growth, higher mortality with Bt	Ni *et al*., 2017
	棉铃虫 *H. armigera*	JH 甲基转移酶基因 JH methyl transferase gene (*JHAMT*)	保幼激素 JH 的转运相关酶 Transport of JH	500	番茄 *Solanum lycopersicum*	35S	核转化 Nuclear transformation	卡那霉素 Kanamycin	畸形，死亡，幼虫和蛹重减轻 Malformation, mortality, reduced larval and pupal weight	Navale *et al*., 2017
	棉铃虫 *H. armigera*	几丁质酶基因 Chitinase gene (*HaCHI*)	昆虫蜕皮和变态发育的必需酶 Required for insect molting and metamorphosis	170	烟草 *Nicotiana tabacum*, 番茄 *S. lycopersicum*	35S	核转化 Nuclear transformation	卡那霉素 Kanamycin	畸形，死亡，生长迟缓，蛹重减轻 Malformation, mortality, retarded growth, reduced pupal weight	Mamta *et al*., 2016
	棉铃虫 *H. armigera*	乙酰胆碱酯酶基因 Acetylcholinesterase gene (*ACE*)	昆虫体内神经传导的关键酶 Involved in nerve conduction in insects	189	本氏烟草 *N. benthamiana*	Prrn/35S	核转化或叶绿体转化 Nuclear or chloroplast transformation	卡那霉素和壮观霉素 Kanamycin and spectinomycin	幼虫重减轻 Reduced larval weight	Bally *et al*., 2016
	棉铃虫 *H. armigera*	精氨酸激酶基因 Arginine kinase gene (*HaAK*)	细胞能量代谢过程中的磷酸转移酶 A phosphotransferase in cellular energy metabolism in invertebrate	1 068	拟南芥 *Arabidopsis thaliana*	35S	核转化 Nuclear transformation	卡那霉素 Kanamycin	死亡，生长迟缓，幼虫重减轻 Mortality, retarded growth, and reduced larval weight	Liu *et al*., 2015
	棉铃虫 *H. armigera*	3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase gene (*HMGR*)	保幼激素 JH 合成的调控限制酶 A rate-limiting enzyme in JH synthesis	455/874	棉花 *G. hirsutum*	35S	核转化 Nuclear transformation	卡那霉素 Kanamycin	死亡，幼虫重减轻，生长迟缓 Mortality, reduced larval weight, retarded growth	Tian *et al*., 2015

续表 1 Table 1 continued

昆虫目 Order	靶标害虫 Target insect pest	靶标基因 Target gene(s)	基因功能 Gene function	dsRNA 长度 Length of dsRNA (bp)	表达 dsRNA 的植物 Plant expressing dsRNA	启动子 Promoter	遗传转化 Genetic transformation	抗性筛选 Resistance screening	对害虫的效果 Effect on insect pest	参考文献 Reference(s)
	棉铃虫 *H. armigera*	几丁质合成酶基因 Chitin synthase gene (*Chi*)，细胞色素 P450 单氧酶基因 Cytochrome P450 monooxygenase gene (*P450*)，ATP 水解酶基因 V-ATPase gene (*V-ATPase*)	昆虫气管、表皮和中肠发育的重要酶；参与棉子酚解毒代谢；参与 ATP 的水解过程 Key enzymes for trachea, cuticle and midgut development; detoxification of gossypol; involved in ATP hydrolysis	19	烟草 *N. tabacum*	PsbA	叶绿体转化 Chloroplast transformation	壮观霉素 Spectinomycin	死亡，生长迟缓，体重减轻，降低化蛹率 Mortality, retarded growth, reduced body weight and pupation rate	Jin *et al.*, 2015
	棉铃虫 *H. armigera*	荷尔蒙受体 3 基因 Hormone receptor 3 gene (*HaHR3*)	参与昆虫变态发育的调控 Involved in insect metamorphosis	358	烟草 *N. tabacum*	35S	核转化 Nuclear transformation	卡那霉素 Kanamycin	畸形，死亡，体重减轻 Malformation, mortality, reduced body weight	Xiong *et al.*, 2013
	棉铃虫 *H. armigera*	蜕皮激素受体基因 Ecdysone receptor gene (*EcR*)	参与昆虫蜕皮和变态发育的调控 Involved in insect molting and metamorphosis	482	烟草 *N. tabacum*	35S	核转化 Nuclear transformation	卡那霉素 Kanamycin	蜕皮缺陷，死亡 Molting defect, mortality	Zhu *et al.*, 2012
	棉铃虫 *H. armigera*	细胞色素 P450 单氧酶基因 Cytochrome P450 gene (*CYP9A14*)	植物次生代谢产物棉子酚的解毒酶之一 Detoxification of gossypol	–	拟南芥 *A. thaliana*	35S	核转化 Nuclear transformation	卡那霉素 Kanamycin	对溴氰菊酯农药的抗性减少 Reduced tolerance to deltamethrin	Tao *et al.*, 2012
	棉铃虫 *H. armigera*	细胞色素 P450 单氧酶基因 Cytochrome P450 gene (*CYP6AE14*)	植物次生代谢产物棉子酚的解毒酶之一 Detoxification of gossypol	469	棉花 *G. hirsutum*	35S	核转化 Nuclear transformation	卡那霉素 Kanamycin	幼虫重减少，对棉子酚抗性下降，对植物的危害减少 Reduced larval weight, reduced tolerance to gossypol, reduced damage to plant	Mao *et al.*, 2011
	棉铃虫 *H. armigera*	细胞色素 P450 单氧酶基因 Cytochrome P450 gene (*CYP6AE14*)	植物次生代谢产物棉子酚的解毒酶之一 Detoxification of gossypol	469	拟南芥 *A. thaliana*，野生烟草 *N. attenuata*	35S	核转化 Nuclear transformation	卡那霉素 Kanamycin	生长迟缓，对棉子酚的抗性减少 Retarded growth, reduced tolerance to gossypol	Mao *et al.*, 2007, 2013

续表 1 Table 1 continued

昆虫目 Order	靶标害虫 Target insect pest	靶标基因 Target gene(s)	基因功能 Gene function	dsRNA 长度 Length of dsRNA (bp)	表达 dsRNA 的植物 Plant expressing dsRNA	启动子 Promoter	遗传转化 Genetic transformation	抗性筛选 Resistance screening	对害虫的效果 Effect on insect pest	参考文献 Reference(s)
	烟草天蛾 *Manduca sexta*	细胞色素 P450 单氧酶基因 Cytochrome P450 gene (*CYP6B46*)	参与昆虫对尼古丁的抗性 Involved in insect resistance to nicotine	300	野生烟草 *N. attenuata*	35S	核转化或病毒侵染表达 Nuclear transformation or virus infection	潮霉素 Hygromycin	基因表达减少，幼虫重无差异 Reduced transcript levels of target gene, no effect on larval weight	Kumar *et al*., 2012
	烟草天蛾 *M. sexta*	细胞色素 P450 单氧酶基因 Cytochrome P450 gene (*CYP6B46*)	参与昆虫对尼古丁的抗性 Involved in insect resistance to nicotine	300	野生烟草 *N. attenuata*	35S	核转化 Nuclear transformation	潮霉素 Hygromycin	血淋巴的尼古丁含量减少，气孔排出尼古丁的含量减少，被狼蛛取食率提高 Reduced nicotine content in the hemolymph, reduced nicotine content from pores to outside, increased possibility of being fed by spider	Kumar *et al*., 2014
鞘翅目 Coleoptera	马铃薯甲虫 *Leptinotarsa decemlineata*	β-actin gene *ACT*, Shrub gene *SHR*	一种必需的细胞骨架蛋白；一种参与囊泡运输膜重构的蛋白复合物的必需亚基 An essential cytoskeletal protein; an essential subunit of a protein complex involved in membrane remodeling for vesicle transport	297/220	马铃薯 *Solanum tuberosum*	Prrn/35S	核转化或叶绿体转化 Nuclear or chloroplast transformation	潮霉素和壮观霉素 Hygromycin and spectinomycin	死亡，生长迟缓，体重减轻，对植物的取食减少 Mortality, retarded growth, reduced body weight, reduced damage to plant	Zhang *et al*., 2015
	玉米根萤叶甲 *Diabrotica virgifera virgifera*	ATP 水解酶 C 亚基基因 V-ATPase subunit C gene (*Dv v-ATPase C*)	参与 ATP 的水解过程 Involved in ATP hydrolysis	275	玉米 *Zea mays*	Ubiquitin	核转化 Nuclear transformation	卡那霉素 Kanamycin	死亡，对植物取食减少 Mortality, reduced damage to plant	Li *et al*., 2015
	玉米根萤叶甲 *D. virgifera virgifera*	ATP 水解酶 A 亚基基因 V-ATPase subunit A gene (*V-ATPase A*)	参与 ATP 的水解过程 Involved in ATP hydrolysis	246	玉米 *Z. mays*	35S	核转化 Nuclear transformation	草甘膦 Glyphosate	对植物取食减少 Reduced damage to plant	Baum *et al*., 2007

续表 1 Table 1 continued

昆虫目 Order	靶标害虫 Target insect pest	靶标基因 Target gene(s)	基因功能 Gene function	dsRNA 长度 Length of dsRNA (bp)	表达 dsRNA 的植物 Plant expressing dsRNA	启动子 Promoter	遗传转化 Genetic transformation	抗性筛选 Resistance screening	对害虫的效果 Effect on insect pest	参考文献 Reference(s)
	玉米根萤叶甲 *D. virgifera virgifera*	*Snf7*	参与细胞膜受体分类等生物进程 Involved in biological processes including the sorting of cell membrane receptors	240	玉米 *Z. mays*	35S	核转化 Nuclear transformation	草甘膦 Glyphosate	死亡 Mortality	Urquhart *et al*., 2015
同翅目 Homoptera	柑橘木虱 *Diaphorina citri*	Abnormal wing disc gene (*Awd*)	参与昆虫翅的形成 Involved in the formation of wings	459	大黄橙 *Citrus macrophylla*	–	病毒侵染表达 Virus infection	–	翅畸形，死亡 Wing malformation, mortality	Hajeri *et al*., 2014
	褐飞虱 *Nilaparvata lugens*	己糖转运基因 Hexose transporter gene (*NlHT1*)，羧肽酶基因 carboxypeptidase gene (*Nlcar*)，丝氨酸蛋白酶基因 Trypsin-like serine protease gene (*Nltry*)	–	–	水稻 *Oryza sativa*	Ubiquitin	核转化 Nuclear transformation	潮霉素 Hygromycin	基因表达减少，死亡率无差异 Reduced transcript levels of target gene, no effect on mortality	Zha *et al*., 2011
	臀纹粉蚧 *Planococcus citri*	几丁质合成酶 1 基因 Chitin synthase 1 gene (*chitin synthase 1*)，ATP 水解酶基因 V-ATPase gene (*V-ATPase*)，肌动蛋白基因 *actin*	参与昆虫几丁质的合成；参与 ATP 的水解；一种必需的细胞骨架蛋白 Involved in chitin synthesis; involved in ATP hydrolysis; an essential cytoskeletal protein	168/290/332	本氏烟草 *N. benthamiana*	–	病毒侵染表达 Virus infection	–	死亡，降低繁殖力 Mortality, reduced fecundity	Khan *et al*., 2013
	马铃薯木虱 *Bactericera cockerelli*	ATP 水解酶基因 V-ATPase gene (*V-ATPase*)，肌动蛋白基因 *actin*	参与 ATP 的水解；一种必需的细胞骨架蛋白 Involved in ATP hydrolysis; an essential cytoskeletal protein	386/364	番茄 *S. lycopersicum*，毛酸浆 *Physalis philadelphica*，烟草 *N. tabacum*	–	病毒侵染表达 Virus infection	–	后代数减少 Reduced progeny production	Wuriyanghan and Falk, 2013
	麦长管蚜 *Sitobion avenae*	羧酸酯酶基因 Carboxylesterase gene (*CbE E4*)	参与昆虫对有机磷酯、氨基甲酸酯和拟除虫菊酯类农药的抗性过程 Involved in the insect resistance to organophosphate, carbamate and pyrethroid	350	小麦 *Triticum aesticum*	Rbcs	核转化 Nuclear transformation	除草剂 Basta	死亡，对倍腈松农药的抗性减少 Mortality, reduced tolerance to phoxim	Xu *et al*., 2014

续表 1 Table 1 continued

昆虫目 Order	靶标害虫 Target insect pest	靶标基因 Target gene(s)	基因功能 Gene function	dsRNA 长度 Length of dsRNA (bp)	表达 dsRNA 的植物 Plant expressing dsRNA	启动子 Promoter	遗传转化 Genetic transformation	抗性筛选 Resistance screening	对害虫的效果 Effect on insect pest	参考文献 Reference(s)
	麦长管蚜 *S. avenae*	鞘蛋白基因 Sheath protein gene (*shp*)	口针护套硬化过程的关键部件 A pivotal component of the sheath hardening process	491	大麦 *Hordeum vulgare*	Ubiquitin	核转化 Nuclear transformation	草铵膦 Glufosinate	生长、繁殖和存活率下降，形态和生理异常，且，RNAi 可遗传(7 代以上) Decline in growth, reproduction and survival rate, morphological and physiological aberrations, heritable RNAi effect (over 7 generations)	Abdellatef *et al*., 2015
	麦长管蚜 *S. avenae*	几丁质合成酶 1 基因 Chitin synthase 1 gene (*CHS1*)	几丁质合成途径的关键酶 Key enzyme in the chitin synthesis pathway	550	小麦 *T. aesticum*	Rbcs	核转化 Nuclear transformation	除草剂 Basta	蜕皮能力减弱，死亡 Reduced molting ability, mortality	Zhao *et al*., 2018
	麦长管蚜 *S. avenae*	*SaZFP*	参与蚜虫对寄主的侵染和消化 Involved in ingestion and digestion	198	小麦 *T. aesticum*	Ubiquitin	核转化 Nuclear transformation	–	死亡，繁殖力下降，RNAi 可遗传 Mortality, reduced fecundity, heritable RNAi effect	Sun *et al*., 2019
	桃蚜 *Myzus persicae*	*Rack1*, *MPC002*, *MpPIntO2* (*Mp2*)	多种细胞通路的关键介质；C002 和 Pinto2 均为蚜虫对寄主植物定殖的效应器 A key mediator of various cellular pathways; both C002 and Pinto2 are candidate effector proteins for plant colonization in aphid	710/309/254	拟南芥 *A. thaliana*	35S	核转化 Nuclear transformation	草铵膦 Glufosinate	生长迟缓，繁殖力下降，RNAi 可遗传 Retarded growth, reduced fecundity, heritable RNAi effect	Coleman *et al*., 2014, 2015
	桃蚜 *M. persicae*	Gap gene *hunchback* (*hb*)	重要的轴向模式调控因子 Key regulator in insect axial patterning	427	烟草 *N. tabacum*	35S	核转化 Nuclear transformation	卡那霉素 Kanamycin	体重减轻，后代数减少 Reduced body weight, reduced progeny production	Mao and Zeng, 2014
	桃蚜 *M. persicae*	丝氨酸蛋白酶基因 Serine protease gene (*MySP*)	–	556	拟南芥 *A. thaliana*	35S	核转化 Nuclear transformation	卡那霉素 Kanamycin	后代数减少 Reduced progeny production	Bhatia *et al*., 2012

续表 1 Table 1 continued

昆虫目 Order	靶标害虫 Target insect pest	靶标基因 Target gene(s)	基因功能 Gene function	dsRNA 长度 Length of dsRNA (bp)	表达 dsRNA 的植物 Plant expressing dsRNA	启动子 Promoter	遗传转化 Genetic transformation	抗性筛选 Resistance screening	对害虫的效果 Effect on insect pest	参考文献 Reference(s)
	桃蚜 *M. persicae*	*Rack*1, *MPC*002	多种细胞通路的关键介质；蚜虫对寄主植物定殖的效应器 A key mediator of various cellular pathways; candidate effector proteins for plant colonization in aphid	710/309	拟南芥 *A. thaliana*	35S	核转化 Nuclear transformation	除草剂 Basta	后代数减少 Reduced progeny production	Pitino *et al*., 2011; Pitino and Hogenhout, 2013
	桃蚜 *M. persicae*	蔗糖酶基因 Sucrase gene (*SUC*), 水通道蛋白基因 Aquaporin gene (*AQP*), 肠道糖转运蛋白基因 Gut sugar transporter gene (*ST*4)	介导取食的蔗糖的水解；促进水的通量下降其渗透梯度；从肠腔中除去单糖 Involved in the hydrolysis of ingested sucrose; to facilitate the flux of water down its osmotic gradient; to remove monosaccharides from the gut lumen	250 – 500	本氏烟草 *N. benthamiana*, 番茄 *Lycopersicon esculentum*	–	病毒侵染表达 Virus infection	–	血淋巴渗透压提高，体重减轻，后代数减少 Elevated hemolymph osmotic pressure, reduced body weight, reduced progeny production	Tzin *et al*., 2015
	桃蚜 *M. persicae*	表皮蛋白基因 Cuticular protein gene (*CP*)	一种必需的结构，与几丁质共同构成表皮 An essential structure in insects in conjunction with chitin to constitute the cuticle	327	拟南芥 *A. thaliana*	35S	核转化 Nuclear transformation	卡那霉素 Kanamycin	繁殖力下降 Reduced fecundity	Bhatia and Bhattacharya, 2018
	马铃薯木虱 *B. cockerelli*	蔗糖酶基因 Sucrase gene (*SUC*), 水通道蛋白基因 Aquaporin gene (*AQP*), 肠道糖转运蛋白基因 Gut sugar transporter gene (*ST*4)	介导取食的蔗糖的水解；促进水的通量下降其渗透梯度；从肠腔中除去单糖 Involved in the hydrolysis of ingested sucrose; to facilitate the flux of water down its osmotic gradient; to remove monosaccharides from the gut lumen	250 – 500	本氏烟草 *N. benthamiana*, 番茄 *L. esculentum*	–	病毒侵染表达 Virus infection	–	血淋巴渗透压提高，体重减轻，后代数减少 Elevated hemolymph osmotic pressure, reduced body weight, reduced progeny production	Tzin *et al*., 2015

续表 1 Table 1 continued

昆虫目 Order	靶标害虫 Target insect pest	靶标基因 Target gene(s)	基因功能 Gene function	dsRNA 长度 Length of dsRNA (bp)	表达 dsRNA 的植物 Plant expressing dsRNA	启动子 Promoter	遗传转化 Genetic transformation	抗性筛选 Resistance screening	对害虫的效果 Effect on insect pest	参考文献 Reference(s)
	烟粉虱 *Bemisia tabaci*	ATP 水解酶基因 V-ATPase gene (*V-ATPase*)	参与 ATP 的水解 Involved in ATP hydrolysis	545	生菜 *Lactuca sativa*	35S	核转化 Nuclear transformation	草铵膦 Glufosinate	死亡，化蛹推迟，产卵数减少 Mortality, delayed pupation, reduced oviposition	Ibrahim *et al*., 2017
	烟粉虱 *B. tabaci*	乙酰胆碱酯酶基因 Acetylcholinesterase gene (*AChE*)，蜕皮激素受体基因 Ecdysone receptor gene (*EcR*)	参与神经递质乙酰胆碱的水解；参与类固醇信号通路 Involved in hydrolysis of the neurotransmitter acetylcholine; involved in the steroid signaling pathway	200	烟草 *N. tabacum*	35S	核转化和病毒侵染表达 Nuclear transformation and virus infection	卡那霉素 Kanamycin	死亡 Mortality	Malik *et al*., 2016
	烟粉虱 *B. tabaci*	亲环蛋白 B 基因 Cyclophilin B gene (*CypB*)，热休克蛋白 70 基因 Heat shock protein 70 gene (*hsp*70)	具有异构酶活性的一类细胞蛋白；参与细胞对病毒的抵抗过程 Cellular proteins with prolyl isomerase activity; involved in a protective role against the virus	282/315	番茄 *S. lycopersicum*	–	病毒侵染表达 Virus infection	–	翅畸形，死亡，产卵量减少，病毒转染减弱，体内共生菌改变 Wing malformation, mortality, reduced oviposition, decreased ability to transmit virus, changed commensal bacteria	Kanakala *et al*., 2019
	烟粉虱 *B. tabaci*	ATP 水解蛋白 A 亚基基因 V-ATPase subunit A gene (*v-ATPaseA*)	参与 ATP 的水解 Involved in ATP hydrolysis	189	烟草 *N. tabacum*	35S	核转化 Nuclear transformation	卡那霉素 Kanamycin	死亡，植物的糖含量提高 Mortality, increased sugar content in plant	Thakur *et al*., 2014
	中黑盲蝽 *Adelphocoris suturalis*	脂酰辅酶 A 还原酶基因 Fatty acyl-CoA reductase gene (*AsFAR*)	催化脂肪酰辅酶 A 前体转化为脂肪醇 Catalyzing the reduction of fatty acyl-CoA precursors into fatty alcohols	432	陆地棉 *G. hirsutum*	35S	核转化 Nuclear transformation	卡那霉素 Kanamycin	后代数减少，植物损伤减少 Reduced progeny production, reduced damage to plant	Luo *et al*., 2017
	绿盲蝽 *Apolygus lucorum*	ATP 水解蛋白 E 基因 V-ATPase E gene (*AlucV-ATPase-E*)	参与 ATP 的水解 Involved in ATP hydrolysis	272	玉米 *Z. mays* 大豆 *Glycine max*	35S	核转化 Nuclear transformation	潮霉素 Hygromycin	死亡 Mortality	Liu *et al*., 2019

–：参考文献中对应的参数未展示或不存在 The corresponding item was not shown or absent in references.

最终减少了烟草天蛾的存活率（Kumar *et al*., 2014）。

2.3 昆虫繁殖力下降

害虫取食了表达其靶标基因 dsRNA 的寄主植物后，其繁殖力也可受到影响，导致产卵量减少等（表 1）。如以桃蚜角质蛋白基因 *cuticular protein* 为靶标构建表达其 dsRNA 的转基因拟南芥 *Arabidopsis thaliana*，当桃蚜取食该拟南芥后，靶标基因 *cuticular protein* 的转录水平显著地下降，导致其繁殖力下降了 47%（Bhatia and Bhattacharya, 2018）；以烟粉虱 *Bemisia tabaci* 参与抵抗番茄黄化曲叶病毒 *Tomato yellow leaf curl virus* 的相关热激蛋白基因 *hsp*70 为靶标构建表达其 dsRNA 的转基因番茄，当烟粉虱取食该番茄后，虫体内靶标基因 *hsp*70 的转录水平下降了约 4 倍，虫体出现畸形，死亡率高达 85.6%，同时其产卵量也减少了 19.4%（Kanakala *et al*., 2019）。

2.4 昆虫子代生长发育的异常

害虫取食了表达其靶标基因 dsRNA 的寄主植物后，不仅其当代的生长发育会受到干扰，而且其子代也会受到影响（表 1）。如以桃蚜基因 *Rack*1, *MPC*002 和 *Mp*2 为靶标构建的转基因拟南芥，当桃蚜取食该拟南芥后，当代虫体靶标基因的转录水平下降了 50% ~70%，出现繁殖力下降等现象；之后，将取食了转基因拟南芥的雌成虫转移至正常拟南芥后，检测其产下的子代虫体靶标基因的转录水平，结果发现子代靶标基因的转录水平也下降了 75%，这表明植物介导桃蚜 RNAi 可以通过桃蚜母本进行垂直传播（Coleman *et al*., 2014; Coleman *et al*., 2015）；Abdellatef 等（2015）也报道了植物介导麦长管蚜 RNAi 可以通过其母本垂直传播至第 6 代。植物介导昆虫 RNAi 通过母本进行垂直传播的现象是否普遍存在于昆虫体内，以及其母本垂直传播作用机理等还有待于进一步的研究。但有理由怀疑植物介导蚜虫 RNAi 的母本垂直传播现象可能与蚜虫的系统性 RNAi（Wang *et al*., 2015）和孤雌生殖的繁殖方式有关，即当蚜虫体内引发了系统性 RNAi 后，dsRNA/siRNA 传播至体内的繁殖细胞，从而导致由繁殖细胞发育而来的子代也具有 RNAi 效果，形成母本垂直传播现象。

3 植物介导昆虫 RNAi 防治害虫效率的影响因素

植物介导昆虫 RNAi 防治害虫有望成为害虫治理的新策略，其防治效率主要取决于 dsRNA 序列特征和 dsRNA 表达量。其中，dsRNA 序列特征包括了 dsRNA 靶标的基因、靶定的位点区域和 dsRNA 的长度等；影响 dsRNA 表达量的因素主要包括了植物表达载体的结构和植物的遗传转化方式等。

3.1 害虫靶标基因的选择

目前已报道的害虫靶标基因选择方法主要包括已知功能蛋白的基因的选择、cDNA 文库和转录组数据筛选等。

3.1.1 选择已知功能蛋白的基因为靶标：以害虫已知功能的基因为靶标构建表达其 dsRNA 的转基因植物，当害虫取食该植物后，其相应靶标基因的功能受到抑制，从而导致害虫的生长发育受到干扰，达到害虫防治的目的。如选择以下已知功能蛋白基因为靶标构建表达其 dsRNA 的植物对相应害虫进行防治：丝氨酸蛋白酶基因 *MySP*（Bhatia *et al*., 2012）、参与对有机磷农药抗性的羧酸酯酶基因 *CbE E*4（Xu *et al*., 2014）、参与细胞结构的骨架蛋白激动蛋白基因 *ACT*（Zhang *et al*., 2015）、参与能量代谢的精氨酸激酶基因 *HaAK*（Liu *et al*., 2015）、神经信号传导相关的关键酶乙酰胆碱酯酶基因 *ACE*（Bally *et al*., 2016）、蜕皮激素受体基因 *EcR*（Malik *et al*., 2016）、保幼激素结合蛋白基因 *JHBP*（Ni *et al*., 2017）、信息素合成相关的脂肪酰基因 *AsFAR*（Luo *et al*., 2017）、参与昆虫组织结构的几丁质合成相关基因 *CHS*1（Zhao *et al*., 2018）和热激蛋白基因 *hsp*70（Kanakala *et al*., 2019）等。此外，以昆虫肠道表达的基因作为靶标基因相对更容易达到害虫防治的作用，这是因为害虫取食摄入的 dsRNA 首先需要经过其肠道围食膜的吸收或转运，而 dsRNA 要到达其他部位则要通过其他屏障，且有可能被降解（Whangbo and Hunter, 2008）。

值得注意的是，通过比较不同功能基因 dsRNA 注射或喂食昆虫的 RNAi 效率，可以为植物介导昆虫 RNAi 防治害虫提供更有潜在应用价值的候选靶标基因，如 Yu 等（2016a, 2016b）分析了农业害虫 37 个 RNAi 效率较高的候选基因，为植物介导昆虫 RNAi 防治害虫提供了丰富的候选靶标基因的信息。随着越来越多的害虫基因组信息破译成功，相信可以为植物介导昆虫 RNAi 防治害虫的策略提供更加丰富的候选靶标基因信息。

3.1.2 根据 cDNA 文库和转录组数据筛选靶标基因：cDNA 文库基因筛选指通过构建害虫的 cDNA 文库获得基因信息，再从这些基因中筛选出 RNAi

效率较高的候选基因作为靶标，比较适合于害虫基因组未被破译时的靶标基因筛选。如 Baum 等(2007)通过玉米根萤叶甲 cDNA 文库获得了大量的基因编码序列，再以喂食其 dsRNA 的方法筛选出了 RNAi 效率较高的靶标基因 *V-ATPase subunit A*，构建表达该基因 dsRNA 的转基因玉米 *Zea mays*，通过喂食实验发现玉米根萤叶甲对该玉米的取食面积显著减少；Mao 等(2007)也通过分析取食了棉子酚的棉铃虫 cDNA 文库筛选到了可以解毒棉子酚的靶标基因 *CYP6AE*14，构建表达该基因 dsRNA 的转基因拟南芥和烟草后，发现棉铃虫取食了这两种植物后对棉子酚的抗性能力显著降低。

转录组测序技术可以为害虫靶标基因的高通量筛选提供新的技术方法(Zhang *et al*., 2013)。例如，Zhang 等(2013)通过比较麦长管蚜取食小麦前后的转录组数据，找到了 16 个高差异表达基因，进一步比较其 RNAi 效率，最终筛选到了 5 个可以引起麦长管蚜发育畸形和死亡的候选基因，为植物介导 RNAi 防治麦长管蚜提供了有利的候选靶标基因；Wang 等(2011)也通过亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* 转录组高通量测序技术找到了 10 个 RNAi 效率较高的候选靶标基因。

制约植物介导的害虫 RNA 干扰应用的主要因素是对昆虫生命过程的分子机理研究不足，导致可选择的特异性的高效靶标基因数量不足。为了找到相对高效的靶标基因，首先应根据基因序列的 BLAST 分析(功能已知基因或同源基因的寻找)或通过 cDNA 文库和转录组数据的分析(未知功能基因的寻找)筛选出一批在昆虫生命进程中发挥了重要功能(特别是肠道高表达的基因)的候选基因，再利用注射或喂食等方法导入昆虫体内，从而筛选出具有高 RNAi 效率或高致死的靶标基因，用于后续的害虫防控研究。

3.2 dsRNA 靶定的位点和长度

当成功筛选到了害虫靶标基因后，如何在该靶标基因上选择合适的靶定位点呢？目前并未见表达害虫靶标基因不同位点区域 dsRNA 的转基因植物对害虫防治效果比较的直接报道，但基因不同位点区域 dsRNA 对害虫的 RNAi 效率的确存在着显著性的差异，如徐秀凤报道的大肠杆菌 *Escherichia coli* 表达精氨酸激酶基因不同位点区域的 dsRNA 对小菜蛾 *Plutella xylostella* 的 RNAi 效率差异显著(徐秀凤, 2012)；Gong 等(2013)报道了用合成的乙酰胆碱酯酶基因不同位点的 siRNA 喂食小菜蛾后，小菜蛾死亡率差异较大(40% ~89%)。

此外，靶标区域 dsRNA 的长度也会影响靶标基因沉默的效率，如 Li 等(2015)通过比较不同长度(21 ~184 bp)的 *V-ATPase C* 基因 dsRNA 对玉米根萤叶甲的 RNAi 效率，发现 dsRNA 的长度应 >60 bp 才有较好的基因沉默效果，且长片段 dsRNA 的沉默效率高于短片段 dsRNA。目前，植物介导昆虫 RNAi 防治害虫的大多数报道采用的靶标基因位点区域 dsRNA 的长度为 200 ~500 bp (表 1)。Feinberg 和 Hunter 等也在不同长度(21 ~592 bp) dsRNA 对果蝇 *Drosophila* S2 细胞的 RNAi 效率比较中，发现了相似的结果，即 RNAi 效率随着 dsRNA 长度的升高而增强(Feinberg and Hunter, 2003; Saleh *et al*., 2006)。但是，Jin 等(2015)报道分别表达了棉铃虫靶标基因 *cytochrome p450 monooxygenase*, *V-ATPase* 和 *chitin synthase* 小片段 dsRNA (约21 bp)的叶绿体转化本氏烟草对棉铃虫也具有较好的 RNAi 效果。

值得注意的是，Li 等(2015)发现植物表达的 dsRNA 会被植物自身的 Dicer 酶切割成小片段 siRNA，那么在植物介导昆虫 RNAi 防治害虫的过程中到底是植物表达的 dsRNA、切割后的 siRNA、还是它们两者共同发挥的作用，这个问题引起了广泛的关注(Whyard, 2015)。目前，较多的报道倾向于认为植物介导昆虫 RNAi 防治害虫的作用因子是植物合成的长片段 dsRNA，而其被植物自身 Dicer 酶切割成的小片段 siRNA 会影响其 RNAi 的效率(Li *et al*., 2015; Zhang *et al*., 2015)，但这一问题的确切答案仍有待于进一步的研究。综上可知，植物介导昆虫 RNAi 防治害虫的靶标基因 dsRNA 长度应尽量 >60 bp，且在一定范围内长度越长，RNAi 效率越高。

3.3 植物表达 dsRNA 载体的结构

目前，已报道有 9 种可表达基因 dsRNA 的载体表达元件排列结构，如双启动子结构、hpRNA 结构、amiRNA 结构和 atasiRNA 结构等(Zhang *et al*., 2015; Guo *et al*., 2016)。在植物表达 dsRNA 的载体构建中使用较多的是 hpRNA 结构，即表达元件按照“启动子-正向靶标基因区域-内含子-反向靶标基因区域-终止子”的顺序排列(Mao and Zeng, 2014; Urquhart *et al*., 2015; Mamta *et al*., 2016)。不同植物表达 dsRNA 结构的载体在植物体内表达的 dsRNA 量可能存在着差异，如 Zhang 等(2015)报道了 3 种植物表达 dsRNA 结构的载体转化马铃薯 *Solanum tuberosum* 后，发现不同载体结构转化后的

马铃薯表达 dsRNA 量差异明显，但具体何种结构的载体在植物体内更有利于 dsRNA 的高表达仍有待于进一步的研究。

此外，载体中的启动子元件决定了植物表达异源蛋白的时间、空间和强度，启动子类型可以分为组成型启动子、诱导型启动子和组织特异型启动子 3 类（杨鹏芳等，2018）。目前，在构建表达 dsRNA 的核转化植物的载体中常用的启动子是花椰菜花叶病毒（cauliflower mosaic virus，CaMV）35S 启动子，也有采用其他启动子的相关报道，如 RbcS 启动子、PRP 启动子和 Ubiquitin 启动子等；用于叶绿体转化植物载体中的启动子主要是 Prrn 启动子和 PsbA 启动子等（表 1）。在选择表达 dsRNA 的植物载体启动子时，可以优先选择启动能力较强的启动子，增加植物表达 dsRNA 量，从而提高 RNAi 效率，如 Khan 等（2015）报道棉叶卷曲滴虫病毒 *Cotton leaf curl Burewala virus* 的 ReP 强启动子，其启动表达的 GUS 量是 CaMV 35S 启动子驱动时的 2～4 倍；也可以选择诱导型表达的启动子，当害虫取食植物后，刺激植物表达其靶标基因 dsRNA 防御害虫，如练云等（2014）报道了一种玉米受伤诱导基因 *Wip*1 表达的启动子；还可以选择组织特异性表达的启动子，该类启动子可以实现外源基因在植物中的组织特异表达，既可以增加特定局部组织的 dsRNA 表达量，又可以避免在其他组织部位表达造成的物质能源浪费，如 Nanjareddy 等（2014）报道的仅在菜豆 *Phaseolus vulgaris* 根部特异性表达的 NIN 启动子等。但是，有报道表明植物合成的 dsRNA 会被自身的 Dicer 酶切割为短的 siRNA，而 siRNA 又可以通过胞间连丝或植物韧皮部进行转运（Jose and Hunter，2007），这或许意味着植物组织特异性启动子表达的 dsRNA 无法达到组织特异性存在的效果。

3.4　表达 dsRNA 植物的遗传转化方式

目前，表达 dsRNA 的植物类型主要有 3 种，分别为病毒侵染瞬时表达的植物、核转化的植物和叶绿体转化的植物（表 1），不同的植物类型表达的 dsRNA 具有各自的优缺点。病毒侵染瞬时表达的方法可以快速获得表达 dsRNA 的植株，可用于不同候选靶标基因 RNAi 效率的快速筛选，但 dsRNA 仅在当代植物上表达，其子代无法获得表达 dsRNA 的能力（Kumar *et al*.，2012）。核转化植物的方式操作较简便，但外源基因随机插入核基因组内，且植物表达的 dsRNA 量较少，同时表达的部分 dsRNA 还会被植物自身的 Dicer 酶切割，影响 RNAi 的沉默效率（Bally *et al*.，2016）。叶绿体转化植物的技术发展较晚，且需要通过较昂贵的仪器（如基因枪）将靶标基因导入到叶绿体基因组内，但其具有许多的优点，如靶标基因可以定点插入叶绿体基因组内，不会破坏其他基因的正常表达；叶绿体细胞器数量众多，无 Dicer 切割酶且 dsRNA 不会被转移出叶绿体细胞器，使得 dsRNA 表达量得到累积，且不会被降解；同时叶绿体转化植物绝大部分属于母系遗传，可以减少或杜绝转基因植物可能引起的基因扩散或生态安全问题等（Wani *et al*.，2015；Bally *et al*.，2018）。

Zhang 等（2015）通过比较核转化和叶绿体转化的植物介导昆虫 RNAi 对马铃薯甲虫 *Leptinotarsa decemlineata* 的防治效果，结果发现叶绿体转化的植物不仅具有更高的 dsRNA 表达量，且对马铃薯甲虫的防治效果显著地优于核转化植物。此外，需要注意的是同一转化类型的不同转基因植物株系对靶标害虫的防治效率也会存在显著性的差异，如 Mamta 等（2016）在比较表达棉铃虫 dsRNA 的核转化烟草不同株系对棉铃虫的防治效果时，发现不同转基因株系对棉铃虫的 RNAi 防治效率差异显著，甚至部分转基因株系对棉铃虫无防治效果；也有报道表明病毒侵染瞬时表达 dsRNA 的转基因本氏烟草不同株系对臂纹粉蚧 *Planococcus citri* 的防治效果差异显著（Khan *et al*.，2013）。由此可知，在利用植物介导昆虫 RNAi 防治害虫的策略时，选择合适的表达 dsRNA 植物的遗传转化方式和转基因株系的筛选至关重要。

由此可见，我们可以从以下方面来提高植物介导 RNAi 防治害虫的效率：（1）靶标基因的选择：筛选出更加高效的害虫靶标基因，且选择该基因内有效的位点和适当的 dsRNA 长度。（2）提高植物 dsRNA 的含量：如选择在植物体内启动表达能力较强的启动子来构建害虫靶标基因的 RNAi 结构，优先选择叶绿体转化植物的方式获得叶绿体高表达害虫靶标基因 dsRNA 的植物；或抑制植物 Dicer 酶的活性，从而减少 dsRNA 在植物体内的降解，如 Kumar 等（2012）报道的通过降低烟草 Dicer 酶的 dsRNA 降解活性，提高了植物表达害虫靶标基因 dsRNA 的量，从而成功提高了其对烟草天蛾靶标基因的沉默水平。此外，在构建植物表达害虫靶标基因 dsRNA 的载体时，也可以以多个害虫基因作为靶标基因，同时沉默其多个基因的表达，从而达到提高 RNAi 效率的作用，如 Tzin 等（2015）报道表达了桃蚜多个靶标基因 dsRNA 的本氏烟草可以提高其对

桃蚜的 RNAi 效率。

4 植物介导昆虫 RNAi 防治害虫的潜在安全性

表达 dsRNA 的转基因植物与传统的转基因植物存在着显著性的差异,即表达 dsRNA 的转基因植物不会产生新蛋白,仅产生害虫靶标基因的 dsRNA,因此可以避免很多由转基因植物直接表达的目的蛋白带来的潜在安全性风险,如普通转基因植物表达目的蛋白后,该蛋白可能产生的毒性、过敏性、营养性和超级杂草等安全性的问题可以得到避免(Talas-Oğraş, 2011; Roberts *et al*., 2015; 焦悦等, 2018)。同时,转基因植物表达的 dsRNA 在环境中极易降解,这也为植物介导昆虫 RNAi 防治害虫策略的环境友好型特点奠定了基础,如 Dubelman 等(2014)报道了将体外合成的 dsRNA 转移至 3 种不同土壤中后,90% dsRNA 量均在 35 h 内降解了,但是 Feng 等(2011)结果显示转基因植物释放的抗虫 Bt 蛋白在不同土壤中降解 90% 需要 4.66 ~ 162.45 d。

但是,植物介导昆虫 RNAi 防治害虫策略也还面临着一些潜在的安全性问题,如转基因植物的安全性问题和 RNAi 潜在的脱靶效应(off-target gene effect),即非靶标基因被沉默的现象,其中脱靶效应包括 3 个层面:植物自身基因被沉默、靶标害虫的非靶标基因被沉默和其他生物基因的沉默(Lundgren and Duan, 2013; Roberts *et al*., 2015)。

4.1 表达 dsRNA 的转基因植物潜在安全性问题

表达昆虫 dsRNA 的转基因植物不可避免地带来一些潜在的安全性问题,如筛选标记基因漂移和核转化中由表达载体随机插入植物基因组内可能引起的插入位点原基因的表达异常等(Tzfira and Citovsky, 2006)。目前,用于筛选表达 dsRNA 的转基因植物的标记基因主要是抗生素类和除草剂类的抗性标记基因,如卡那霉素、壮观霉素、潮霉素、草甘膦、Basta、草丁膦和草铵膦等(表 1),当这些筛选标记基因发生漂移后,就可能引起其他动植物或细菌等产生相应的抗性,如产生具有抵抗相应抗生素的超级细菌或抗相应除草剂的杂草等。但值得注意的是,在构建植物表达载体时,添加 Cre-*lox* 序列可以在获得了转基因植物后对筛选标记基因进行删除,这一基因删除技术为解决由筛选标记基因漂移可能引起的安全性问题提供了方法(Éva *et al*., 2018)。同时,核转化植物中的害虫靶标基因 RNAi 结构随机插入基因组内可能引起的植物原插入位点基因表达异常的问题也有望得到解决(寿惠霞和周丽, 2017),如 Miki 等(2018)报道了利用 CRISPR/Cas9 技术成功将植物表达载体中的 T-DNA 结构定点插入到相应的拟南芥基因组内,将这段 donor 序列替换为昆虫靶标基因 RNAi 结构后,通过 CRISPR/Cas9 技术将该 RNAi 结构定点插入植物基因组内,可以消除核转化方法的 RNAi 结构随机插入植物基因组内的不足。

4.2 植物介导昆虫 RNAi 防治害虫的潜在脱靶效应

4.2.1 植物自身基因被沉默:植物介导昆虫 RNAi 防治害虫的第一步即为植物表达害虫靶标基因的 dsRNA,表达的部分 dsRNA 会被植物自身的 Dicer 酶切割为小片段的 siRNA,siRNA 可以沿着植物的胞间连丝或韧皮部进行全植株的扩散,这也许可以为整株植物提供保护,但同时也为植物自身基因的 RNAi 脱靶效应提供了可能,导致植物自身体内与表达的害虫靶标基因 dsRNA/siRNA 部分同源的基因被沉默(Xu *et al*., 2006; Jose and Hunter, 2007; Roberts *et al*., 2015)。目前,植物表达的害虫靶标基因 dsRNA 对植物本身基因产生的非特异性沉默还有待于进一步的研究(Auer and Frederick, 2009),但有报道表明植物表达的自身基因 dsRNA 不仅可以沉默其靶标基因的表达,同时也可以显著地沉默其他同源性高于 21 nt 的非靶标基因的表达(Xu *et al*., 2006)。

4.2.2 有益的脱靶效应:生物接触到植物表达的 dsRNA 的方式主要有两种,第 1 种是从植物原材料、土壤或环境中接触,第 2 种是通过食物网的方式获得 dsRNA (Roberts *et al*., 2015)。有益的脱靶效应指植物表达的 dsRNA 不仅可以沉默靶标害虫的非靶标基因,也可以沉默非靶标有害生物(如除靶标害虫以外的其他害虫、线虫和植食性螨虫等)的同源基因,从而达到广谱除害的效果。

靶标害虫取食了表达其靶标基因 dsRNA 的植物后,靶标基因的表达会受到抑制,害虫生长发育受到影响,从而提高其死亡率,但害虫的非靶标基因的表达也可能受到抑制,这可能是由于 RNAi 的直接脱靶效应,也可能是由于靶标基因的表达减少而造成的下游非靶标基因转录减少(也可以称之为 RNAi 间接脱靶效应)。例如,Tian 等(2015)报道的 RNAi 直接脱靶效应,即棉铃虫取食表达了其 *HMGR* 基因(保幼激素合成相关酶基因) dsRNA 的棉花

Gossypium hirsutum 后，靶标基因 *HMGR* 的沉默率为 80.7%，但同时其下游基因卵黄蛋白原基因 *vitellogenin*（后代胚胎发育的重要营养源）的表达也被沉默了 76.9%；Navale 等（2017）报道的 RNAi 间接脱靶效应，即棉铃虫取食表达其 *JH methyl transferase* 基因 dsRNA 的番茄后，靶标基因的表达被沉默了 90.0%，但同时其下游基因 *Kr-h*1 的表达也被沉默了 72.0%。此外，RNAi 间接脱靶效应也可能导致非靶标基因的表达上调（Jackson *et al*., 2003），这可能是由于靶标基因的表达减少而造成的同功能蛋白或其他蛋白的基因表达上调。Kumar 等（2012）报道了烟草天蛾取食表达其细胞色素 P450 家族 *CYP6B*46 基因 dsRNA 的烟草后，其靶标基因 *CYP6B*46 被显著地沉默了，但与靶标基因 dsRNA 的区域拥有较高同源性（同源性为 80.4%，且有一段连续同源 23 nt 的序列）的非靶标基因 *CYP6B*45 的表达并没有受到抑制，猜测可能是由于非靶标基因 *CYP6B*45 表达的酶与靶标基因 *CYP6B*46 表达的酶具有部分相同功能，从而使得非靶标基因 *CYP6B*45 上调表达而抵消了其脱靶沉默效应。

对于其他有害生物来说，我们希望植物介导昆虫 RNAi 不仅能够防治靶标害虫，同时也可以充分发挥其 RNAi 脱靶效应来防治其他有害生物，这样可以达到广谱除害的效果。例如，Zhu 等（2012）报道用表达了棉铃虫蜕皮素受体基因 dsRNA 的烟草分别喂食棉铃虫和甜菜夜蛾 *Spodoptera litura*（基因同源性为 89.0%，且有 3 个连续同源 21 ~ 29 nt 的序列）后，发现不仅靶标害虫棉铃虫的死亡率显著地提高了，而且非靶标害虫甜菜夜蛾的死亡率也显著地提高了。值得注意的是，利用 RNAi 脱靶效应防治其他害虫的效果似乎与它们的基因同源性程度成正相关，如 Bhatia 等（2012）报道了用表达了桃蚜 *MySP* 基因 dsRNA 的拟南芥分别喂食桃蚜和豌豆蚜 *Acyrthosiphon pisum* 后，发现靶标害虫桃蚜的 *MySP* 基因被显著地沉默了，但是非靶标害虫豌豆蚜的两个同源性基因（同源性仅为 40.3% 和 41.1%）的表达并未受到抑制；Bachman 等（2013）也报道了玉米根萤叶甲的 *Snf7* 基因 dsRNA 对不同昆虫的脱靶性，评估它们之间的基因同源性与 RNAi 效率之间的关系，结果表明不同基因间应至少具有 3 段连续同源的 21 nt 序列，RNAi 才具有脱靶效应。

4.2.3　不利的脱靶效应：从有益生物（包括捕食性的天敌、蜜蜂甚至是哺乳类动物等）角度考虑，我们希望植物介导昆虫 RNAi 防治害虫的脱靶效应（此时也可认为是潜在的生态安全性问题）尽可能地减少甚至消除（Roberts *et al*., 2015；Yu *et al*., 2016b）。例如，Zhang 等（2012）报道了哺乳动物取食了水稻 *Oryza sativa* 特异表达的 miRNA 后，其关联蛋白基因的表达被抑制了，但植物介导昆虫 RNAi 防治害虫策略对有益生物的脱靶性问题还有待进一步的研究。随着植物介导昆虫 RNAi 技术在转基因作物中的进一步应用，表达 dsRNA 的转基因植物可能产生的安全性风险也越来越受到人们的关注，因此针对表达 dsRNA 的转基因植物的安全性评价尤为重要，但是目前国内尚未有专门针对基于 RNAi 的转基因产品安全评价指南（张守路等，2018）。

为了充分利用植物介导的昆虫 RNAi 防治害虫的脱靶效应，实现广谱性害虫防治的优势，同时尽量避免对有益生物造成脱靶效应的危害，在害虫靶标基因的筛选时，应重点要针对不同生物（包括寄主植物、不同害虫和其他生物）基因组进行充分的基因同源性比对分析，优先选择那些与其他害虫同源性高且与有益生物同源性低的基因作为靶标基因，如基于基因同源性 > 21 nt 认为存在脱靶性可能（Bachman *et al*., 2013）为依据对靶标基因进行基因组数据的筛选。目前，已有多个利用基因组数据筛选的方法来减少靶标基因 RNAi 脱靶效应的相关报道，如利用全基因组富集的种子序列匹配方法（Sigoillot *et al*., 2012）、特异性 RNAi 靶标基因设计软件 OfftargetFinder（http://rnai.specifly.org，可比对超过 100 种节肢动物转录组数据，找出低于 21 nt 同源的靶标基因序列）（Good *et al*., 2015）和 TK-siRNA 软件比对方法（http://benthgenome.com）（Bally *et al*., 2016）等。

5　小结与展望

应用植物介导昆虫 RNAi 来防治害虫具有特异性抑制害虫靶标基因表达的功能，成本低、针对性强且对环境友好，目前已有针对鳞翅目、鞘翅目和同翅目害虫防治的相关报道。目前，基于 RNAi 的转基因玉米已在美国、巴西和日本等 8 个国家和地区通过转基因安全评价，于 2017 年 6 月获得了美国环境署（US-EPA）的种植许可，并已向我国申请转基因生物安全证书。在应用植物介导昆虫 RNAi 防治害虫的策略时，需要特别关注转基因植物可能产生的安全性风险和潜在的 RNAi 脱靶性问题，在害虫靶标

基因的选择、dsRNA 位点和长度设计时，首先应针对不同生物进行充分的基因同源性比对分析，以 RNAi 脱靶性需要满足 >21 nt 同源为前提，充分发挥转基因植物对非靶标害虫的脱靶性，实现广谱性害虫防治的优点，同时也要避免对有益生物造成脱靶效应的危害；之后要针对潜在脱靶生物进行实验室喂食试验进一步验证其脱靶效应；最后要通过相应的转基因植物审查评估环节，真正实现植物介导昆虫 RNAi 在大田实际应用于害虫防治的目的。

随着对植物介导昆虫 RNAi 防治害虫研究的深入，可以更多地朝着以下方面进一步的提高害虫防治的效率：

（1）进一步阐明植物介导昆虫 RNAi 防治害虫的作用机理，提高其 RNAi 的作用效率；

（2）通过基因组和转录组等大数据分析并筛选出更多、更有效的害虫 RNAi 靶标基因资源，为特异性的害虫防治甚至广谱杀虫效应奠定基础；

（3）加强对害虫发育、免疫、生理生化和抗药性等的分子机理研究，发现新的害虫特异性的高效防治的靶标基因，为植物介导的害虫 RNA 干扰提供新的靶标基因；

（4）以多个基因的组合作为靶标构建表达其 dsRNA 的转基因植物，或与其他抗虫基因（如抗虫 Bt 蛋白基因）结合，构建同时表达害虫靶标基因 dsRNA 和抗虫蛋白的转基因植物，从而增强对害虫的防控效率，同时减少或延缓害虫对表达单个靶标基因 dsRNA 或单个抗虫蛋白的植物可能产生的抗性；

（5）删除表达 dsRNA 的转基因植物携带的筛选标记基因，进一步减少转基因植物可能引起的安全性问题；

（6）通过基因编辑 CRISPR/Cas9 系统等弥补核转化植物无法定点插入的不足，或通过叶绿体转化技术获得更高效、更安全的害虫防治效果；

（7）建立更加完备的植物介导昆虫 RNAi 防治害虫的生态安全性评估体系，为大田实际应用创造条件等。

相信应用植物介导昆虫 RNAi 来防治害虫的策略一定可以得到迅速的发展，有力地辅助化学农药防治，弥补现有转基因植物表达 Bt 对刺吸式害虫无效的缺点，同时有效防控已对农药产生抗性的害虫，成为害虫防治的新策略。

参考文献（References）

Abdellatef E, Will T, Koch A, Imani J, Vilcinskas A, Kogel KH, 2015. Silencing the expression of the salivary sheath protein causes transgenerational feeding suppression in the aphid *Sitobion avenae*. *Plant Biotechnol. J.*, 13(6): 849–857.

Auer C, Frederick R, 2009. Crop improvement using small RNAs: applications and predictive ecological risk assessments. *Trends Biotechnol.*, 27(11): 644–651.

Bachman PM, Bolognesi R, Moar WJ, Mueller GM, Paradise MS, Ramaseshadri P, Tan J, Uffman JP, Warren J, Wiggins BE, Levine SL, 2013. Characterization of the spectrum of insecticidal activity of a double-stranded RNA with targeted activity against western corn rootworm (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte). *Transgenic Res.*, 22(6): 1207–1222.

Bally J, Fishilevich E, Bowling AJ, Pence HE, Narva KE, Waterhouse PM, 2018. Improved insect-proofing: expressing double-stranded RNA in chloroplasts. *Pest Manag. Sci.*, 74(8): 1751–1758.

Bally J, Mcintyre GJ, Doran RL, Lee K, Perez A, Jung H, Naim F, Larrinua IM, Narva KE, Waterhouse PM, 2016. In-plant protection against *Helicoverpa armigera* by production of long hpRNA in chloroplasts. *Front. Plant Sci.*, 7: 1453–1461.

Baum JA, Bogaert T, Clinton W, Heck GR, Feldmann P, Ilagan O, Johnson S, Plaetinck G, Munyikwa T, Pleau M, Vaughn T, Roberts J, 2007. Control of coleopteran insect pests through RNA interference. *Nat. Biotechnol.*, 25(11): 1322–1326.

Bhatia V, Bhattacharya R, 2018. Host-mediated RNA interference targeting a cuticular protein gene impaired fecundity in the green peach aphid *Myzus persicae*. *Pest Manag. Sci.*, 74(9): 2059–2068.

Bhatia V, Bhattacharya R, Uniyal PL, Singh R, Niranjan RS, 2012. Host generated siRNAs attenuate expression of serine protease gene in *Myzus persicae*. *PLoS ONE*, 7(10): e46343.

Bonning BC, Chougule NP, 2014. Delivery of intrahemocoelic peptides for insect pest management. *Trends Biotechnol.*, 32(2): 91–98.

Brodersen P, Voinnet O, 2006. The diversity of RNA silencing pathways in plants. *Trends Genet.*, 22(5): 268–280.

Carthew RW, Sontheimer EJ, 2009. Origins and mechanisms of miRNAs and siRNAs. *Cell*, 136(4): 642–655.

Coleman AD, Pitino M, Hogenhout SA, 2014. Silencing of aphid genes by feeding on stable transgenic *Arabidopsis thaliana*. *PLoS ONE*, 6(10): e25709.

Coleman AD, Wouters RH, Mugford ST, Hogenhout SA, 2015. Persistence and transgenerational effect of plant-mediated RNAi in aphids. *J. Exp. Bot.*, 66(2): 541–548.

Dong Y, Friedrich M, 2005. Nymphal RNAi: systemic RNAi mediated gene knockdown in juvenile grasshopper. *BMC Biotechnol.*, 5(1): 25.

Dowling D, Pauli T, Donath A, Meusemann K, Podsiadlowski L, Petersen M, Peters RS, Mayer C, Liu S, Zhou X, Misof B, Niehuis O, 2016. Phylogenetic origin and diversification of RNAi pathway genes in insects. *Genome Biol. Evol.*, 8(12): 3784–3793.

Dubelman S, Fischer J, Zapata F, Huizinga K, Jiang C, Uffman J, Levine S, Carson D, 2014. Environmental fate of double-stranded RNA in agricultural soils. *PLoS ONE*, 9(3): e93155.

Elbashir SM, Lendeckel W, Tuschl T, 2001. RNA interference is mediated by 21- and 22-nucleotide RNAs. *Gene Dev.*, 15(2): 188–200.

Éva C, Téglás F, Zelenyánszki H, Tamás C, Juhász A, Mészáros K, Tamás L, 2018. Cold inducible promoter driven Cre-*lox* system proved to be highly efficient for marker gene excision in transgenic barley. *J. Biotechnol.*, 265: 15–24.

Feinberg EH, Hunter CP, 2003. Transport of dsRNA into cells by the transmembrane protein SID-1. *Science*, 301(5639): 1545–1547.

Feng YJ, Ling L, Fan HZ, Liu YH, Tan FX, Shu YH, Wang JW, 2011. Effects of temperature, water content and pH on degradation of Cry1Ab protein released from Bt corn straw in soil. *Soil Biol. Biochem.*, 43(7): 1600–1606.

Fire A, Xu S, Montgomery MK, Kostas SA, Driver SE, Mello CC, 1998. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 391(6669): 806–811.

Furlong MJ, Wright DJ, Dosdall LM, 2013. Diamondback moth ecology and management: problems, progress, and prospects. *Annu. Rev. Entomol.*, 58: 517–541.

Gao MY, Liu JJ, Ni DA, 2017. Plant genetic transformation promotes modern agriculture and the food safety of genetically modified plants. *J. Technol.*, 17(4): 317–326. [高马也, 刘俊杰, 倪迪安, 2017. 植物转基因对现代农业的促进作用及其食用安全性. 应用技术学报, 17(4): 317–326]

Gatehouse AMR, Ferry N, Edwards MG, Bell HA, 2011. Insect-resistant biotech crops and their impacts on beneficial arthropods. *Phil. Trans. R. Soc. B*, 366(1569): 1438–1452.

Gong L, Chen Y, Hu Z, Hu M, 2013. Testing insecticidal activity of novel chemically synthesized siRNA against *Plutella xylostella* under laboratory and field conditions. *PLoS ONE*, 8(5): e62990.

Good RT, Varghese T, Golz JF, Russell DA, Papanicolaou A, Edwards O, Robin C, 2015. OfftargetFinder: a web tool for species-specific RNAi design. *Bioinformatics*, 32(8): 1232–1234.

Guo Q, Liu Q, Smith NA, Liang G, Wang MB, 2016. RNA silencing in plants: mechanisms, technologies and applications in horticultural crops. *Curr. Genet.*, 17(6): 476–489.

Hajeri S, Killiny N, El-Mohtar C, Dawson WO, Gowda S, 2014. *Citrus tristeza* virus-based RNAi in citrus plants induces gene silencing in *Diaphorina citri*, a phloem-sap sucking insect vector of citrus greening disease (Huanglongbing). *J. Biotechnol.*, 176: 42–49.

Hu SR, Guan RB, Li HC, Miao XX, 2019. Application of RNAi in insect pest management: important progress and problems. *Acta Entomol. Sin.*, 62(4): 506–515. [胡少茹, 关若冰, 李海超, 苗雪霞, 2019. RNAi 在害虫防治中应用的重要进展及存在问题. 昆虫学报, 62(4): 506–515]

Huvenne H, Smagghe G, 2010. Mechanisms of dsRNA uptake in insects and potential of RNAi for pest control: a review. *J. Insect Physiol.*, 56(3): 227–235.

Ibrahim AB, Monteiro TR, Cabral GB, Aragão FJL, 2017. RNAi-mediated resistance to whitefly (*Bemisia tabaci*) in genetically engineered lettuce (*Lactuca sativa*). *Transgenic Res.*, 26(5): 613–624.

Jackson AL, Bartz SR, Schelter J, Kobayashi SV, Burchard J, Mao M, Li B, Cavet G, Linsley PS, 2003. Expression profiling reveals off-target gene regulation by RNAi. *Nat. Biotechnol.*, 21(6): 635–637.

Janmaat AF, Myers J, 2003. Rapid evolution and the cost of resistance to *Bacillus thuringiensis* in greenhouse populations of cabbage loopers, *Trichoplusia ni*. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 270(1530): 2263–2270.

Jiao Y, Fu W, Zhai Y, 2018. Application of RNAi in crop breeding and its safety assessment. *Crops*, (1): 9–15. [焦悦, 付伟, 翟勇, 2018. RNAi 技术在作物中的应用及安全评价研究. 作物杂志, (1): 9–15]

Jin S, Singh ND, Li L, Zhang X, Daniell H, 2015. Engineered chloroplast dsRNA silences *cytochrome p450 monooxygenase*, *V-ATPase* and *chitin synthase* genes in the insect gut and disrupts *Helicoverpa armigera* larval development and pupation. *Plant Biotechnol. J.*, 13(3): 435–446.

Jose AM, Hunter CP, 2007. Transport of sequence-specific RNA interference information between cells. *Annu. Rev. Genet.*, 41: 305–330.

Kanakala S, Kontsedalov S, Lebedev G, Ghanim M, 2019. Plant-mediated silencing of the whitefly *Bemisia tabaci* cyclophilin b and heat shock protein 70 impairs insect development and virus transmission. *Front. Physiol.*, 10: 557.

Katoch R, Sethi A, Thakur N, Murdock L, 2013. RNAi for insect control: current perspective and future challenges. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 171(4): 847–873.

Khan AM, Ashfaq M, Kiss Z, Khan AA, Mansoor S, Falk BW, 2013. Use of recombinant tobacco mosaic virus to achieve RNA interference in plants against the citrus mealybug, *Planococcus citri* (Hemiptera: Pseudococcidae). *PLoS ONE*, 8(9): e73657.

Khan ZA, Abdin MZ, Khan JA, 2015. Functional characterization of a strong bi-directional constitutive plant promoter isolated from *Cotton leaf curl Burewala virus*. *PLoS ONE*, 10(3): e0121656.

Kim YH, Issa MS, Cooper AMW, Zhu KY, 2015. RNA interference: applications and advances in insect toxicology and insect pest management. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 120: 109–117.

Kumar P, Pandit SS, Baldwin IT, 2012. Tobacco rattle virus vector: a rapid and transient means of silencing *Manduca sexta* genes by plant mediated RNA interference. *PLoS ONE*, 7(2): e31347.

Kumar P, Pandit SS, Steppuhn A, Baldwin IT, 2014. Natural history-driven, plant-mediated RNAi-based study reveals *CYP6B46*'s role in a nicotine-mediated antipredator herbivore defense. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 111(4): 1245–1252.

Li H, Bowling AJ, Gandra P, Rangasamy M, Pence HE, McEwan RE, Khajuria C, Siegfried BD, Narva KE, 2016. Systemic RNAi in western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera*, does not involve transitive pathways. *Insect Sci.*, 25(1): 45–56.

Li H, Khajuria C, Rangasamy M, Gandra P, Fitter M, Geng C, Woosely A, Hasler J, Schulenberg G, Worden S, Mcewan R, Evans C, Siegfried B, Narva KE, 2015. Long dsRNA but not siRNA initiates RNAi in western corn rootworm larvae and adults.

J. Appl. Entomol., 139(6): 432 -445.

Lian Y, Liu YJ, Wang GY, 2014. Isolation of a maize wound-induced gene promoter and characterization of the gene expression in maize. *Sci. Agric. Sin.*, 47(14): 2889 -2896. [练云, 刘允军, 王国英, 2014. 玉米受伤诱导基因 *Wip*1 的启动子克隆及表达分析. 中国农业科学, 47(14): 2889 -2896]

Liu F, Wang XD, Zhao YY, Li YJ, Liu YC, Sun J, 2015. Silencing the *HaAK* gene by transgenic plant-mediated RNAi impairs larval growth of *Helicoverpa armigera*. *Int. J. Biol. Sci.*, 11(1): 67 -74.

Liu F, Yang B, Zhang A, Ding D, Wang G, 2019. Plant-mediated RNAi for controlling *Apolygus lucorum*. *Front. Plant Sci.*, 10: 64.

Liu QH, Rand TA, Kalidas S, Du FH, Kim HE, Smith DP, Wang XD, 2003. R2D2, a bridge between the initiation and effector steps of the *Drosophila* RNAi pathway. *Science*, 301(5641): 1921 -1925.

Lundgren JG, Duan JJ, 2013. RNAi-based insecticidal crops: potential effects on nontarget species. *BioScience*, 63(8): 657 -665.

Luo J, Liang SJ, Li JY, Xu ZP, Li L, Zhu B, Li Z, Lei CL, Lindsey K, Chen LZ, Jin SX, Zhang XL, 2017. A transgenic strategy for controlling plant bugs (*Adelphocoris suturalis*) through expression of double-stranded RNA homologous to fatty acyl-coenzyme A reductase in cotton. *New Phytol.*, 215(3): 1173 -1185.

Luo Y, Wang X, Yu D, Kang L, 2012. The SID-1 double-stranded RNA transporter is not required for systemic RNAi in the migratory locust. *RNA Biol.*, 9(5): 663 -671.

Malik HJ, Raza A, Amin I, Scheffler JA, Scheffler BE, Brown JK, Mansoor S, 2016. RNAi-mediated mortality of the whitefly through transgenic expression of double-stranded RNA homologous to acetylcholinesterase and ecdysone receptor in tobacco plants. *Sci. Rep.*, 6: 38469.

Malone CD, Hannon GJ, 2009. Small RNAs as guardians of the genome. *Cell*, 136(4): 656 -668.

Mamta, Reddy K, Rajam M, 2016. Targeting chitinase gene of *Helicoverpa armigera* by host-induced RNA interference confers insect resistance in tobacco and tomato. *Plant Mol. Biol.*, 90(3): 281 -292.

Mao J, Zeng F, 2014. Plant-mediated RNAi of a gap gene-enhanced tobacco tolerance against the *Myzus persicae*. *Transgenic Res.*, 23(1): 145 -152.

Mao YB, Cai WJ, Wang JW, Hong GJ, Tao XY, Wang LJ, Huang YP, Chen XY, 2007. Silencing a cotton bollworm P450 monooxygenase gene by plant-mediated RNAi impairs larval tolerance of gossypol. *Nat. Biotechnol.*, 25(11): 1307 -1313.

Mao YB, Tao XY, Xue XY, Wang LJ, Chen XY, 2011. Cotton plants expressing *CYP6AE*14 double-stranded RNA show enhanced resistance to bollworms. *Transgenic Res.*, 20(3): 665 -673.

Mao YB, Xue XY, Tao XY, Yang CQ, Wang LJ, Chen XY, 2013. Cysteine protease enhances plant-mediated bollworm RNA interference. *Plant Mol. Biol.*, 83: 119 -129.

McEwan DL, Weisman AS, Hunter CP, 2012. Uptake of extracellular double-stranded RNA by SID-2. *Mol. Cell*, 47(5): 746 -754.

Meister G, Tuschl T, 2004. Mechanisms of gene silencing by double-stranded RNA. *Nature*, 431(7006): 343 -349.

Miki D, Zhang W, Zeng W, Feng Z, Zhu JK, 2018. CRISPR/Cas9-mediated gene targeting in *Arabidopsis* using sequential transformation. *Nat. Commun.*, 9(1): 1967.

Nagyová A, Subr Z, 2007. Infectious full-length clones of plant viruses and their use for construction of viral vectors. *Acta Virol.*, 51(4): 223 -237.

Nanjareddy K, Arthikala MK, Aguirre AL, Gómez BM, Lara M, 2017. Plant promoter analysis: identification and characterization of root nodule specific promoter in the common bean. *J. Vis. Exp.*, 130: e56140.

Napoli C, Lemieux C, Jorgensen R, 1990. Introduction of a chimeric chalcone synthase gene into petunia results in reversible co-suppression of homologous genes *in trans*. *Plant Cell*, 2(4): 279 -289.

Navale PM, Manamohan M, Asokan R, Krishna V, Sharath CG, Prasad BK, Latha J, Krishna KNK, Ellango R, 2017. Transgenic tomato expressing dsRNA of juvenile hormone acid O-methyl transferase gene of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) affects larval growth and its development. *J. Asia-Pac. Entomol.*, 20(2): 559 -567.

Ni M, Ma W, Wang X, Gao M, Dai Y, Wei X, Zhang L, Peng Y, Chen S, Ding L, 2017. Next generation transgenic cotton: pyramiding RNAi and Bt counters insect resistance. *Plant Biotechnol. J.*, 15(9): 1204 -1213.

Pitino M, Coleman AD, Maffei ME, Ridout CJ, Hogenhout SA, 2011. Silencing of aphid genes by dsRNA feeding from plants. *PLoS ONE*, 6(10): e25709.

Pitino M, Hogenhout SA, 2013. Aphid protein effectors promote aphid colonization in a plant species-specific manner. *Mol. Plant-Microbe. Interact.*, 26(1): 130 -139.

Powell ME, Bradish HM, Gatehouse JA, Fitches EC, 2016. Systemic RNAi in the small hive beetle *Aethina tumida* Murray (Coleoptera: Nitidulidae), a serious pest of the European honey bee (*Apis mellifera*). *Pest Manag. Sci.*, 73(1): 53 -63.

Prentice K, Pertry I, Christiaens O, Bauters L, Bailey A, Niblett C, Ghislain M, Gheysen G, Smagghe G, 2015. Transcriptome analysis and systemic RNAi response in the African sweetpotato weevil (*Cylas puncticollis*, Coleoptera, Brentidae). *PLoS ONE*, 10(1): e0115336.

Price DR, Gatehouse JA, 2008. RNAi-mediated crop protection against insects. *Trends Biotechnol.*, 26(7): 393 -400.

Roberts AF, Devos Y, Lemgo GNY, Zhou X, 2015. Biosafety research for non-target organism risk assessment of RNAi-based GE plants. *Front. Plant Sci.*, 6: 958 -966.

Romano N, Macino G, 1992. Quelling: transient inactivation of gene expression in *Neurospora crassa* by transformation with homologous sequences. *Mol. Microbiol.*, 6(22): 3343 -3353.

Saleh MC, van Rij RP, Hekele A, Gillis A, Foley E, O'Farrell PH, Andino R, 2006. The endocytic pathway mediates cell entry of dsRNA to induce RNAi silencing. *Nat. Cell Biol.*, 8(8): 793 -802.

Shen XJ, Yang G, 2016. Review of RNAi pathways and their core

components in insects. *Chin. J. Appl. Entomol.*, 53(3): 446 - 455. [沈修婧, 杨广, 2016. 昆虫 RNAi 通路及其核心元件的研究综述. 应用昆虫学报, 53(3): 446 - 455]

Shou HX, Zhou L, 2017. Genetic engineering and genome editing in plants. *Plant Physiol. J.*, 53(8): 1341 - 1344. [寿惠霞, 周丽, 2017. 植物转基因与基因组编辑. 植物生理学报, 53(8): 1341 - 1344]

Sigoillot FD, Lyman S, Huckins JF, Adamson B, Chung E, Quattrochi B, King RW, 2012. A bioinformatics method identifies prominent off-targeted transcripts in RNAi screens. *Nat. Methods*, 9(4): 363 - 366.

Sijen T, Fleenor J, Simmer F, Thijssen KL, Parrish S, Timmons L, Plasterk RHA, Fire A, 2001. On the role of RNA amplification in dsRNA-triggered gene silencing. *Cell*, 107(4): 465 - 476.

Siomi H, Siomi MC, 2009. RISC hitches onto endosome trafficking. *Nat. Cell Biol.*, 11(9): 1049 - 1051.

Sun Y, Sparks C, Jones H, Riley M, Francis F, Du W, Xia L, 2019. Silencing an essential gene involved in infestation and digestion in grain aphid through plant-mediated RNA interference generates aphid-resistant wheat plants. *Plant Biotechnol. J.*, 17(5): 852 - 854.

Swevers L, Vanden BJ, Smagghe G, 2013. The possible impact of persistent virus infection on the function of the RNAi machinery in insects: a hypothesis. *Front. Physiol.*, 4: 319.

Tabashnik BE, Carrière Y, 2017. Surge in insect resistance to transgenic crops and prospects for sustainability. *Nat. Biotechnol.*, 35(10): 926 - 935.

Talas-Oğraş T, 2011. Risk assessment strategies for transgenic plants. *Acta Physiol. Plant.*, 33(3): 647 - 657.

Tao XY, Xue XY, Huang YP, Chen XY, Mao YB, 2012. Gossypol enhanced P450 gene pool contributes to cotton bollworm tolerance to a pyrethroid insecticide. *Mol. Ecol.*, 21(17): 4371 - 4385.

Thakur N, Upadhyay SK, Verma PC, Chandrashekar K, Tuli R, Singh PK, 2014. Enhanced whitefly resistance in transgenic tobacco plants expressing double stranded RNA of *v-ATPase A* gene. *PLoS ONE*, 9(3): e87235.

Tian G, Cheng L, Qi X, Ge Z, Niu C, Zhang X, Jin S, 2015. Transgenic cotton plants expressing double-stranded RNAs target *HMG-CoA reductase* (*HMGR*) gene inhibits the growth, development and survival of cotton bollworms. *Int. J. Biol. Sci.*, 11(11): 1296 - 1305.

Tomoyasu Y, Miller SC, Tomita S, Schoppmeier M, Grossmann D, Bucher G, 2008. Exploring systemic RNA interference in insects: a genome-wide survey for RNAi genes in *Tribolium*. *Genome Biol.*, 9(1): R10.

Tsai HY, Chen CCG, Darryl Conte J, Moresco JJ, Chaves DA, Mitani S, John RY, Tsai MD, Mello CC, 2015. A ribonuclease coordinates siRNA amplification and mRNA cleavage during RNAi. *Cell*, 160(3): 407 - 419.

Tsuboyama K, Tadakuma H, Tomari Y, 2018. Conformational activation of argonaute by distinct yet coordinated actions of the Hsp70 and Hsp90 chaperone systems. *Mol. Cell*, 70(4): 722 - 729.

Tzfira T, Citovsky V, 2006. *Agrobacterium*-mediated genetic transformation of plants: biology and biotechnology. *Curr. Opin. Biotech.*, 17(2): 147 - 154.

Tzin V, Yang X, Jing X, Zhang K, Jander G, Douglas AE, 2015. RNA interference against gut osmoregulatory genes in phloem-feeding insects. *J. Insect Physiol.*, 79: 105 - 112.

Urquhart W, Mueller GM, Carleton S, Song Z, Perez T, Uffman JP, Jensen PD, Levine SL, Ward J, 2015. A novel method of demonstrating the molecular and functional equivalence between *in vitro* and plant-produced double-stranded RNA. *Regul. Toxicol. Pharm.*, 73(2): 607 - 612.

Wan P, Huang Y, Wu H, Huang M, Cong S, Tabashnik BE, Wu K, 2012. Increased frequency of pink bollworm resistance to Bt toxin Cry1Ac in China. *PLoS ONE*, 7(1): e29975.

Wang D, Liu Q, Li X, Sun Y, Wang H, Xia L, 2015. Double-stranded RNA in the biological control of grain aphid (*Sitobion avenae* F.). *Funct. Integr. Genomics*, 15(2): 211 - 223.

Wang M, Thomas N, Jin H, 2017. Cross-kingdom RNA trafficking and environmental RNAi for powerful innovative pre- and post-harvest plant protection. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 38: 133 - 141.

Wang YB, Zhang H, Li HC, Miao XX, 2011. Second-generation sequencing supply an effective way to screen RNAi targets in large scale for potential application in pest insect control. *PLoS ONE*, 6(4): e18644.

Wani S, Sah S, Sági L, Solymosi K, 2015. Transplastomic plants for innovations in agriculture. A review. *Agron. Sustain. Dev.*, 35(4): 1391 - 1430.

Whangbo JS, Hunter CP, 2008. Environmental RNA interference. *Trends Genet.*, 24(6): 297 - 305.

Whyard S, 2015. Insecticidal RNA, the long and short of it. *Science*, 347(6225): 950 - 951.

Winston WM, Sutherlin M, Wright AJ, Feinberg EH, Hunter CP, 2007. *Caenorhabditis elegans* SID-2 is required for environmental RNA interference. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104(25): 10565 - 10570.

Wuriyanghan H, Falk BW, 2013. RNA interference towards the potato psyllid, *Bactericera cockerelli*, is induced in plants infected with recombinant *Tobacco mosaic virus* (TMV). *PLoS ONE*, 8(6): e66050.

Xiong Y, Zeng H, Zhang Y, Xu D, Qiu D, 2013. Silencing the *HaHR3* gene by transgenic plant-mediated RNAi to disrupt *Helicoverpa armigera* development. *Int. J. Biol. Sci.*, 9(4): 370 - 381.

Xu L, Duan X, Lv Y, Zhang X, Nie Z, Xie C, Ni Z, Liang R, 2014. Silencing of an aphid carboxylesterase gene by use of plant-mediated RNAi impairs *Sitobion avenae* tolerance of phoxim insecticides. *Transgenic Res.*, 23(2): 389 - 396.

Xu P, Zhang Y, Kang L, Roossinck MJ, Mysore KS, 2006. Computational estimation and experimental verification of off-target silencing during posttranscriptional gene silencing in plants. *Plant Physiol.*, 142(2): 429 - 440.

Xu XF, 2012. Recombinant *Escherichia coli* Expressing dsRNA of Arginine Kinase Gene of *Plutella xylostella* and its RNA-interference

Effect. MSc Thesis, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou.［徐秀凤, 2012. 小菜蛾精氨酸激酶基因 dsRNA 在大肠杆菌中的表达及其效应. 福州: 福建农林大学硕士学位论文］

Yang PF, Duan GQ, Hu XW, Miao XM, Nan SZ, Zhang LJ, 2018. Overview of higher plant promoters research. *Mol. Plant Breed.*, 16(5): 1482–1493.［杨鹏芳, 段国琴, 胡晓炜, 缪秀梅, 南淑珍, 张丽静, 2018. 高等植物启动子研究概述. 分子植物育种, 16(5): 1482–1493］

Yu X, Jones HD, Sun YW, Wang GP, Xia LQ, 2016a. Cross-species silencing: plant-mediated RNAi for insect control. In: Huw DJ ed. Biotechnology of Major Cereals. Centre for Agriculture and Biosciences International, UK. 151–164.

Yu XD, Liu ZC, Huang SL, Chen ZQ, Sun YW, Duan PF, Ma YZ, Xia LQ, 2016b. RNAi-mediated plant protection against aphids. *Pest Manag. Sci.*, 72(6): 1090–1098.

Zha W, Peng X, Chen R, Du B, Zhu L, He G, 2011. Knockdown of midgut genes by dsRNA-transgenic plant-mediated RNA interference in the hemipteran insect *Nilaparvata lugens*. *PLoS ONE*, 6(5): e20504.

Zhang J, Khan SA, Hasse C, Ruf S, Heckel DG, Bock R, 2015. Full crop protection from an insect pest by expression of long double-stranded RNAs in plastids. *Science*, 347(6225): 991–994.

Zhang J, Khan SA, Heckel DG, Bock R, 2017. Next-generation insect-resistant plants: RNAi-mediated crop protection. *Trends Biotechnol.*, 35(9): 871–882.

Zhang L, Hou D, Chen X, Li D, Zhu L, Zhang Y, Li J, Bian Z, Liang X, Cai X, Yin Y, Wang C, Zhang T, Zhu D, Zhang D, Xu J, Chen Q, Ba Y, Liu J, Wang Q, Chen J, Wang J, Wang M, Zhang Q, Zhang J, Zen K, Zhang C, 2012. Exogenous plant MIR168a specifically targets mammalian LDLRAP1: evidence of cross-kingdom regulation by microRNA. *Cell Res.*, 22(1): 107–126.

Zhang M, Zhou Y, Wang H, Jones HD, Gao Q, Wang D, Ma Y, Xia L, 2013. Identifying potential RNAi targets in grain aphid (*Sitobion avenae* F.) based on transcriptome profiling of its alimentary canal after feeding on wheat plants. *BMC Genomics*, 14(1): 1–15.

Zhang SL, Rao LQ, Wang QM, 2018. Advances in research and development of genetically modified crops based on RNAi. *Modern Agric. Sci. Technol.*, (21): 3–6.［张守路, 饶力群, 汪启明, 2018. 基于 RNAi 的转基因作物研发进展. 现代农业科技, (21): 3–6］

Zhao Y, Sui X, Xu L, Liu G, Lu L, You M, Xie C, Li B, Ni Z, Liang R, 2018. Plant-mediated RNAi of grain aphid *CHS*1 gene confers common wheat resistance against aphids. *Pest Manag. Sci.*, 74(12): 2754–2760.

Zhu JQ, Liu S, Ma Y, Zhang JQ, Qi HS, Wei ZJ, Yao Q, Zhang WQ, Li S, 2012. Improvement of pest resistance in transgenic tobacco plants expressing dsRNA of an insect-associated gene *EcR*. *PLoS ONE*, 7(6): e38572.

Zotti M, Dos Santos EA, Cagliari D, Christiaens O, Taning CNT, Smagghe G, 2018. RNA interference technology in crop protection against arthropod pests, pathogens and nematodes. *Pest Manag. Sci.*, 74(6): 1239–1250.

Zotti MJ, Smagghe G, 2015. RNAi technology for insect management and protection of beneficial insects from diseases: lessons, challenges and risk assessments. *Neotrop. Entomol.*, 44(3): 197–213.

（责任编辑：赵利辉）